

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 04/2018

Allergene IV:

Sellerie, Senf und Sesam

in Kartoffelchips

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

1. Korrektur 6.11.2018:

In den Tabellen der PCR-Ergebnisse für Sellerie ist jeweils ein Fehler aufgetreten:
Auf Seite 22 wurden die Angaben negativ und positiv für die Proben A und B in der letzten Zeile Konsenswert unten in der Tabelle irrtümlich vertauscht. Auf Seite 24 wurde irrtümlich negativ als Konsenswert für die Dotierungsniveauprobe angegeben.
Beide Fehler wurden hiermit korrigiert.
Die Bewertungen der Teilnehmerergebnisse waren nicht betroffen.

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 04/2018
<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 (6. November 2018) 1. Korrektur / 1st Correction 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: 6. November 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.....	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 und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen).....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen).....	22
4.2 Vergleichsuntersuchung Senf.....	26
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba).....	26
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba).....	36
4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam.....	40
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam.....	40
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam.....	53
5. Dokumentation.....	57
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	57
5.1.1 ELISA: Senf.....	57
5.1.2 ELISA: Sesam.....	59
5.1.3 PCR: Sellerie.....	61
5.1.4 PCR: Senf.....	63
5.1.5 PCR: Sesam.....	65
5.2 Homogenität.....	67
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	67
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	68
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	69
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	70

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

Nach Zerkleinern mittels Messermühle und Sieben (mesh 2,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Sellerie, Senf und Sesam enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle zerkleinert und gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3 weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Die **Dotierungsniveauprobe** wurde mit den oben genannten allergenhaltigen Dotierungsmaterialien unter mehrstufiger Zugabe von Kartoffelpulver (mesh 500 µm) und Homogenisierung hergestellt.

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
Kartoffelchips Light Zutaten: Kartoffeln, Sonnenblumenöl, Salz Nährwertangaben pro 100 g: Fett 22 g, Kohlenhydrate 64 g, Ballaststoffe 4,5 g, Eiweiß 7,0 g, Salz 1,4 g	100 g/100 g	98,0 g/100g	-
Kartoffelpüree Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	1,8 g/100 g	99,8 g/100 g
<i>Selleriesamen:</i> - als Sellerie* - davon 20,0% Gesamtprotein**	-	47,5 mg/kg 9,50 mg/kg	46,3 mg/kg 9,27 mg/kg
<i>Senf, gelb:</i> - als Senf* - davon 30,6% Gesamtprotein**	-	60,3 mg/kg 18,5 mg/kg	58,8 mg/kg 18,0 mg/kg
<i>Sesam, weiß:</i> - als Sesam* - davon 23,3% Gesamtprotein**	-	37,8 mg/kg 8,80 mg/kg	36,8 mg/kg 8,58 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> <i>Maltodextrin, Natriumsulfat und</i> <i>Siliciumdioxid</i>	-	<0,2 g/100 g	<0,2 g/100 g

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

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

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in 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]. Da die Kartoffelchipsproben aufgrund der fetthaltigen Konsistenz mit der Microtracer-Analyse nicht untersucht werden können, wurde nur die Dotierungsniveauprobe untersucht. Die Microtracer-Analyse hat eine Wahrscheinlichkeit von 43% 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 [17]. Es wurde ein HorRat-Wert von 1,0 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

Durchführung der Homogenitätstests

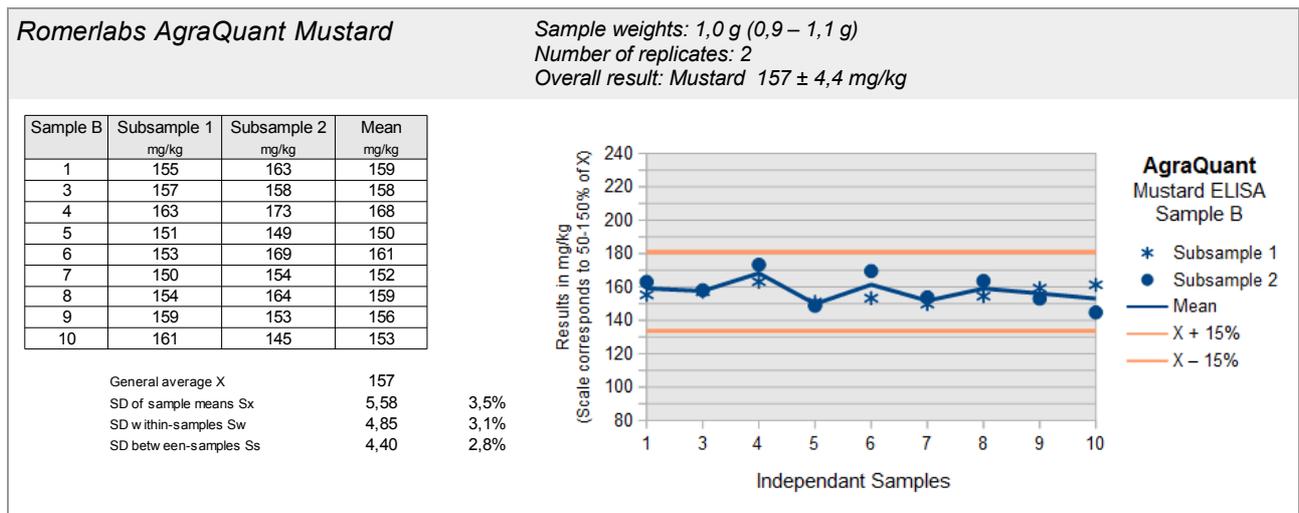
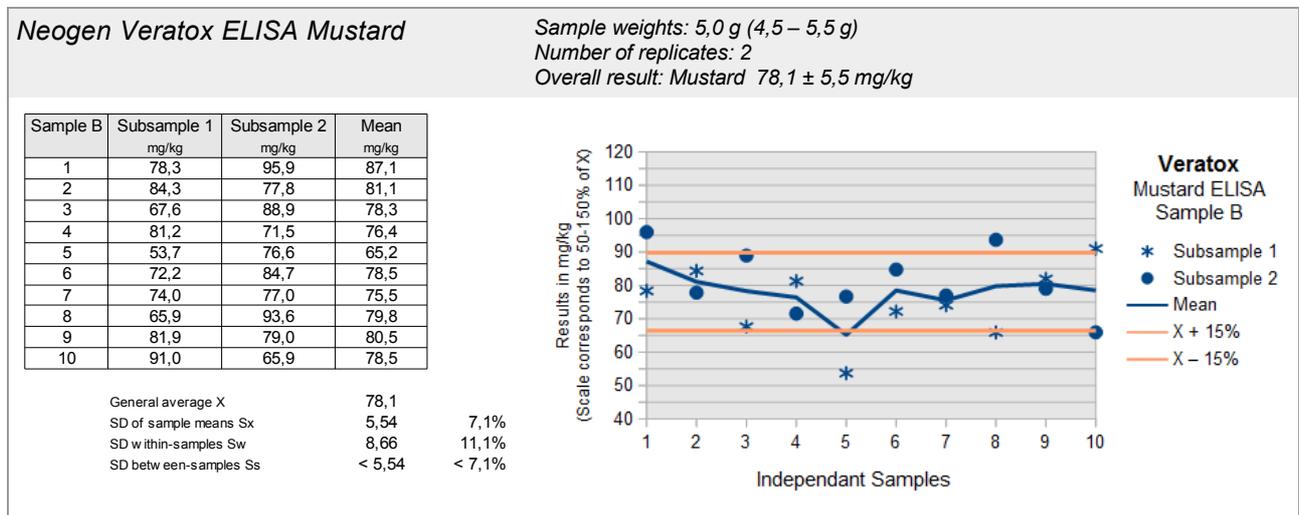
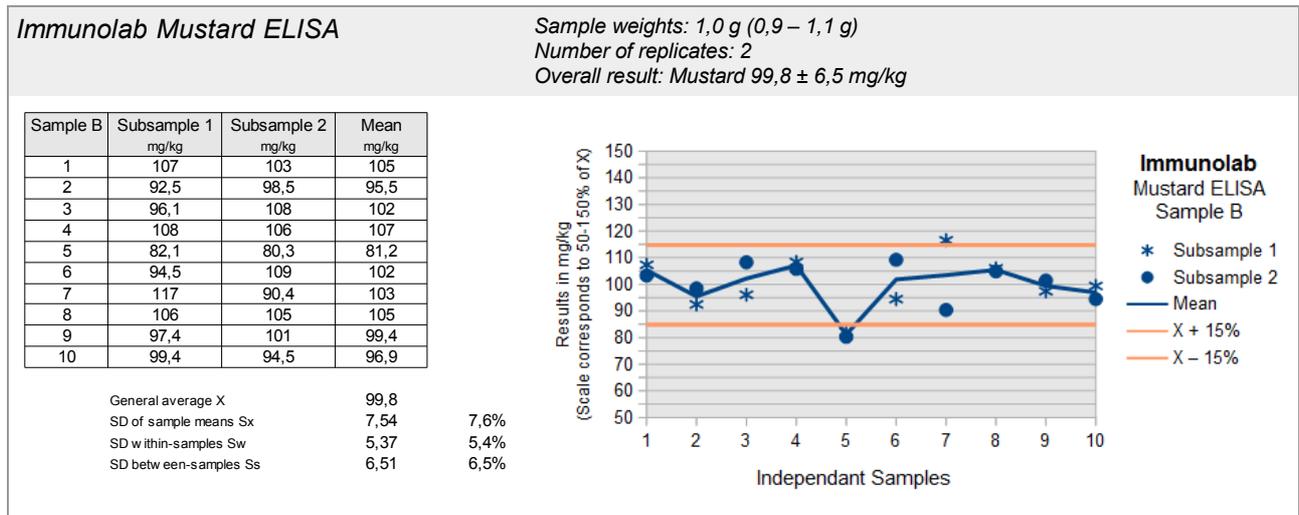
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur 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 Analyseergebnisse durch die Labors wurden die gültigen Ergebnisse anhand der exakten Einwaagen von DLA berechnet und die statistische Berechnung gemäß ISO 13528:2015 Anhang B (ggf. inkl. Anmerkungen 1 u. 2) vorgenommen.

Bewertung der Homogenität

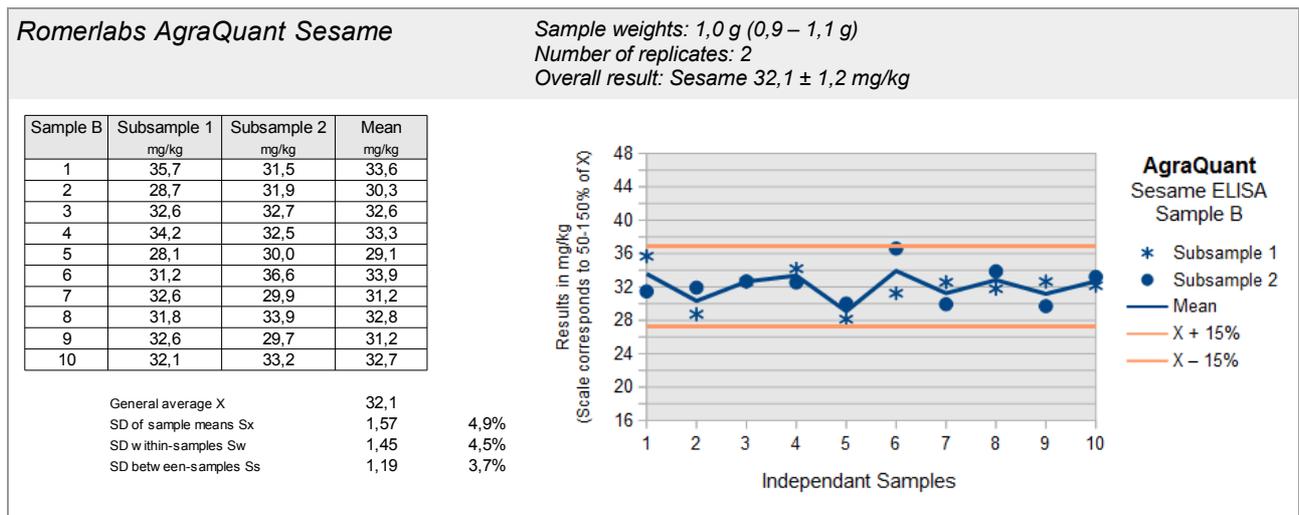
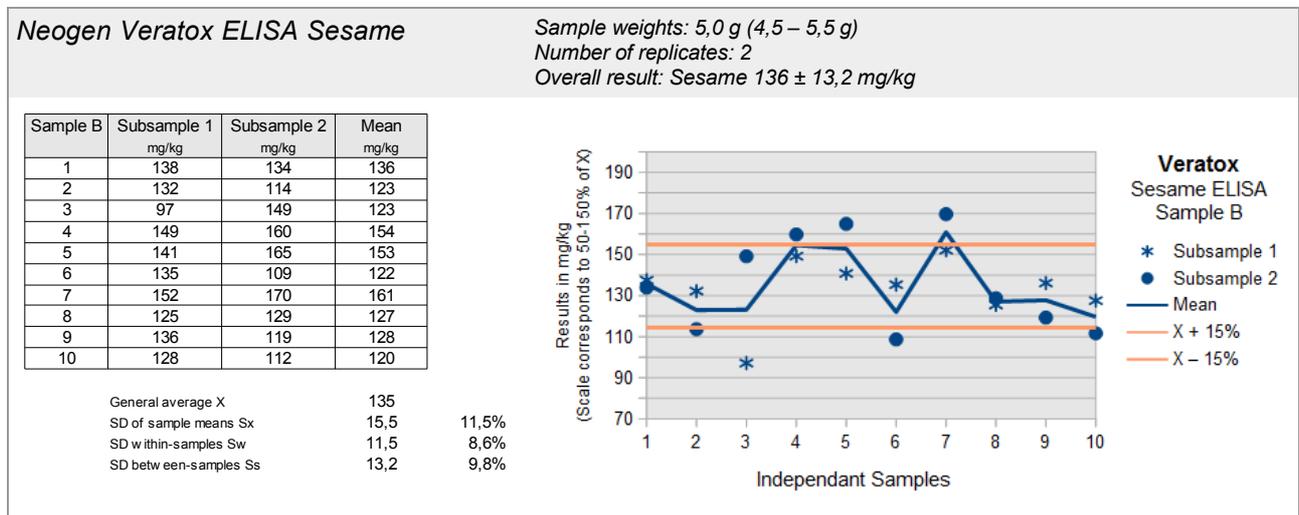
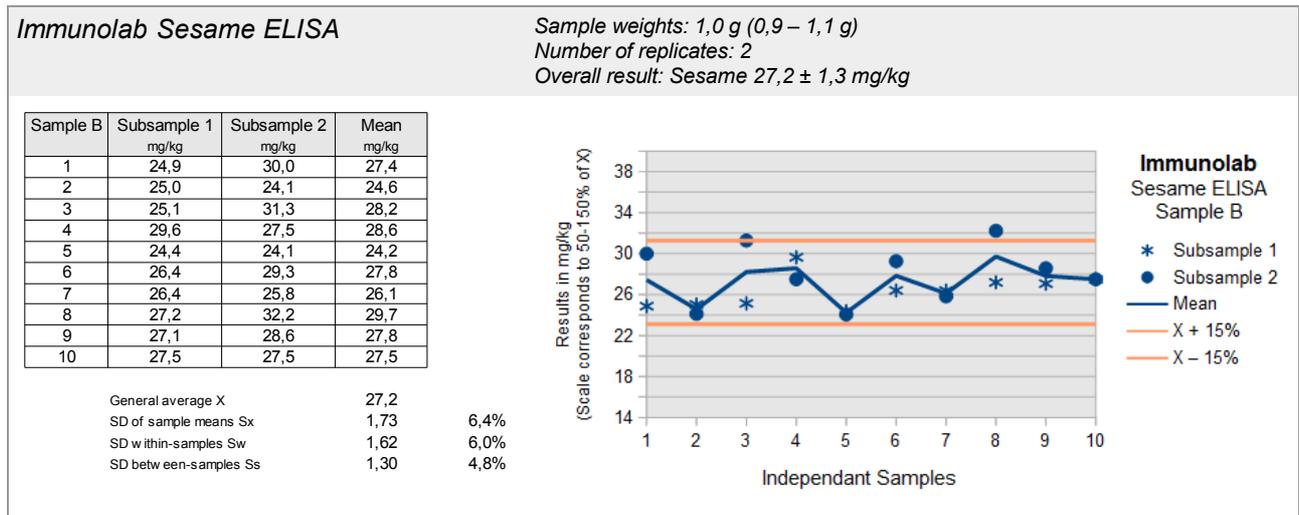
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $S_s \leq 15\%$ („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests für Senf (Immunolab, Veratox, AgraQuant) und Sesam (Immunolab, Veratox, AgraQuant) erfüllt (s. Seite 7-8). 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 Senf / Homogeneity Mustard



ELISA-Tests: Homogenität Sesam / Homogeneity Sesame



2.1.2 Stabilität

Eine Wasseraktivität (a_w) von $< 0,5$ ist ein wichtiger Faktor um die Stabilität von trockenen und getrockneten Produkten während der Lagerung zu gewährleisten, optimale Bedingung für die Lagerung ist der a_w -Wert-Bereich von $0,15 - 0,3$, in diesem Bereich ist die geringstmögliche Degradationsrate zu erwarten [16].

Die Erfahrungen mit diversen DLA-Materialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität (a_w -Wert $< 0,5$) eine gute Haltbarkeit der EP-Proben und Lagerstabilität gegenüber mikrobiellem Verderb und bezüglich des Gehalts an den EP-Parametern.

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,17$ ($25,8^\circ\text{C}$). 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 24. Kalenderwoche 2018 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 10. August 2018.

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

Es handelt sich um zwei unterschiedliche Proben A und B mit möglichen Gehalten an den allergenen Parametern Sellerie, Senf und/oder Sesam im mg/kg Bereich in der Matrix Kartoffelchips. Eine der beiden Proben sowie die "Dotierungsniveauprobe" wurden mit den allergenen Zutaten hergestellt. Die "Dotierungsniveauprobe" enthält die Allergene in einfacher Matrix mit ähnlichen Gehalten ohne weitere Prozessierung. Die Dotierungsniveauprobe soll wie eine normale Probe untersucht werden.

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 40 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [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: Δ Median - 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 Einzelmethode** - $X_{ptMETHOD i}$
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 Einzelmethoden** - $S^*_{METHOD\ i}$
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, zu geringe Anzahl signifikanter Stellen (gültige Ziffern) 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 (Algorithmus A) geprüft: Ergebnisse, die um mehr als das Dreifache der robusten Standardabweichung vom robusten Mittelwert abweichen, können danach als Ausreißer eingestuft werden [3]. Aufgrund der Anwendung der robusten Statistik werden Ausreißer i.d.R. nicht von der Auswertung ausgeschlossen, sofern keine anderen Gründe vorliegen (s.o.) [3]. Ermittelte Ausreißer werden im Ergebnisteil nur genannt, wenn sie von der statistischen Auswertung ausgeschlossen wurden.

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

Die Zielstandardabweichung des zugewiesenen Wertes σ_{pt} (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt werden.

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 Analysenmethoden 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 mg/kg = 1 ppm = 10^{-6} 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_r eines Versuchs zur Präzision einer Methode (Ringversuch oder LVU) kann unter Berücksichtigung der Anzahl der Wiederholmessungen m der Teilnehmer in der vorliegenden Vergleichsuntersuchung die Zielstandardabweichung σ_{pt} abgeleitet werden [3]:

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

Die in Tabelle 2a (ELISA) und Tabelle 2b (PCR) angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relativen 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 im Bereich von 11 - 32% für die ELISA-Methoden und 15 - 43% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [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} [32-36]

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

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [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 [22] 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 werden 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]. Gleichmaßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

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

Jeder zugewiesene Wert ist mit einer Standardunsicherheit behaftet, die von der Analysenmethode, Unterschieden der eingesetzten Analysemethoden, 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

tes 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.

Die Rückführbarkeit des zugewiesenen Wertes wird anhand des Konsenswertes als robuster Mittelwert der Teilnehmerergebnisse gewährleistet.

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 Einzelmethode 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- bzw. PCR-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 **Senf-** und **Sesamprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe (s. S.5) auf das **Gesamtlebensmittel (Senfsamen, Sesamsamen)** umgerechnet worden.

In der vorliegenden LVU wurden die quantitativen PCR-Ergebnisse z.B. für Sellerie teilweise unklar bzw. nicht plausibel als Sellerie-DNA, Selleriesamen, Sellerieknolle und/oder nur als Sellerie angegeben. Es wurde von Vereinheitlichung aller PCR-Ergebnisangaben abgesehen.

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 $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{M i}}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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

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

[°] Zielbereich berechnet mit z-Score oder z'-Score

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Anmerkung:

Es wurden keine ELISA-Bestimmungen von den Teilnehmern durchgeführt.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
15	negativ		positiv	61,9	2/2 (100%)	ASU	als Sellerie
24	negativ		positiv	38,7	2/2 (100%)	ASU	als Selleriesamen, getr.
28	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
31	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
34	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
37	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
4	negativ		positiv		2/2 (100%)	FP	als Sellerie-DNA
7	negativ		positiv		2/2 (100%)	GI	
32	negativ		positiv	170	2/2 (100%)	MS	als Sellerie-DNA
2	negativ	< 1,0	positiv	8,75	2/2 (100%)	SFA	als Sellerie-DNA
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
8	negativ	< 0,4	positiv	> 0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	als Sellerie
12	negativ	< 1	positiv	119	2/2 (100%)	SFA-ID	als Sellerie
22	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
23	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	negativ	< 0,4	positiv	1,60	2/2 (100%)	SFA-Q	als Sellerie
5	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
6	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
17	-		positiv		1/1 (100%)	div	
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
21	negativ		positiv	15,0	2/2 (100%)	div	als Sellerie-DNA, Sellerie-Knolle
25	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
30	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
35	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
40	negativ	< 50	positiv	100	2/2 (100%)	div	als Sellerie

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	25
Anzahl negativ	24	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GI = GEN-IAL First Allergen
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen
 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:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

Anmerkung:

Aufgrund der hohen Streuung der Ergebnisse und der geringen Anzahl erfolgte keine statistische Auswertung. Zudem wurden die quantitativen PCR-Ergebnisse für Sellerie teilweise unklar bzw. nicht plausibel als Sellerie-DNA, Selleriesamen, Sellerieknolle und/oder nur als Sellerie angegeben.

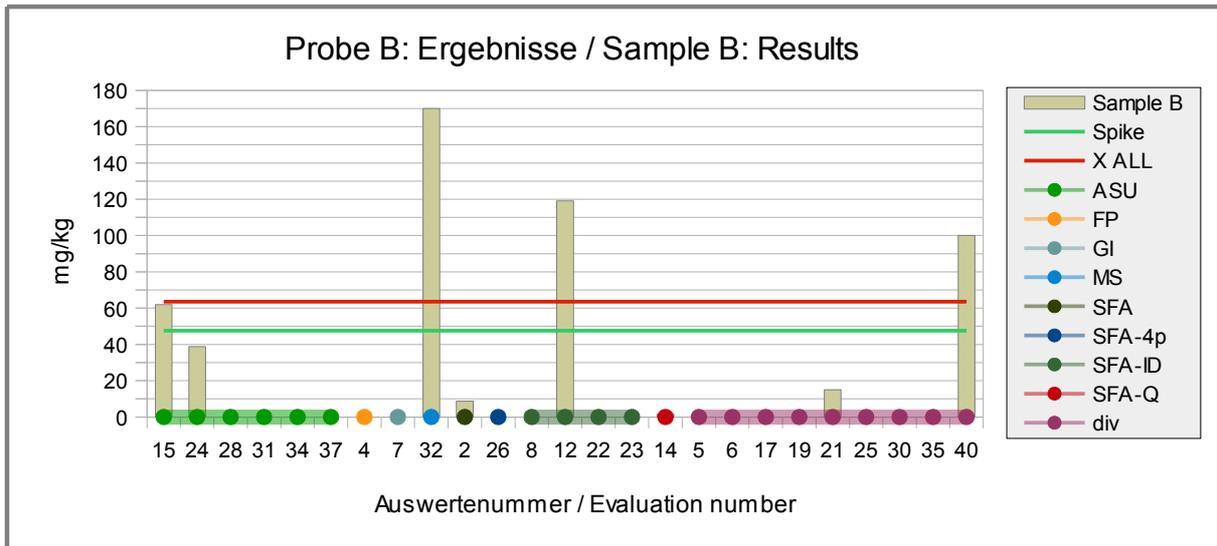


Abb./Fig. 1: PCR-Ergebnisse Sellerie (Probe B)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

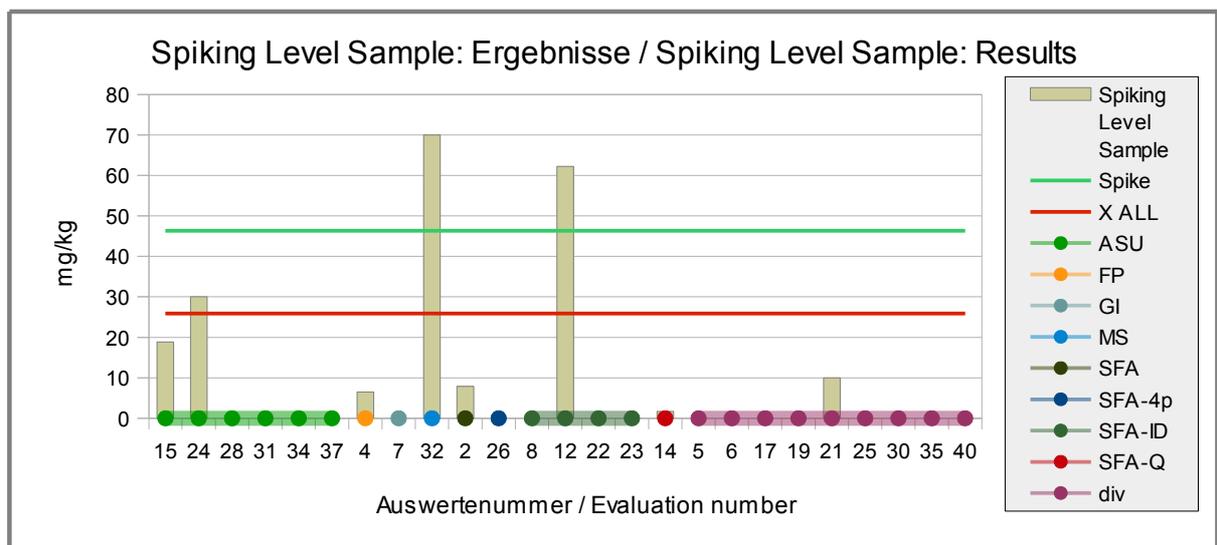


Abb./Fig. 2: PCR-Ergebnisse Sellerie (Dotierungsniveauprobe)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Anmerkung:

Aufgrund der hohen Streuung der Ergebnisse und der geringen Anzahl erfolgte keine statistische Auswertung. Zudem wurden die quantitativen PCR-Ergebnisse für Sellerie teilweise unklar bzw. nicht plausibel als Sellerie-DNA, Selleriesamen, Sellerieknolle und/oder nur als Sellerie angegeben.

Auswertenummer	Sellerie pos/neg	Sellerie [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
15	positiv	18,8		ASU	als Sellerie
24	positiv	30,0		ASU	als Selleriesamen, getr.
28	positiv			ASU	
31	positiv			ASU	
34	positiv			ASU	
37	positiv			ASU	
4	positiv	6,47		FP	als Sellerie-DNA
7	negativ			GI	
32	positiv	70,0		MS	als Sellerie-DNA
2	positiv	7,88		SFA	als Sellerie-DNA
26	positiv			SFA-4p	
8	positiv	> 0.4		SFA-ID	als Sellerie
12	positiv	62,2		SFA-ID	als Sellerie
22				SFA-ID	
23	positiv			SFA-ID	
14	positiv	1,68		SFA-Q	als Sellerie
5	positiv			div	
6	positiv			div	
17				div	
19	positiv			div	
21	positiv	10		div	als Sellerie-DNA, Sellerie-Knolle
25	positiv			div	
30	positiv			div	
35	positiv			div	
40	positiv	<100		div	als Sellerie

Anzahl positiv	22	
Anzahl negativ	1	
Prozent positiv	96	
Prozent negativ	4	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GI = GEN-IAL First Allergen
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen
 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

**Wiederfindungsraten PCR für Sellerie (ausschließlich informativ):
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
15	18,8	41	61,9	130	ASU	als Sellerie
24	30,0	65	38,7	81	ASU	als Selleriesamen, getr.
28					ASU	
31					ASU	
34					ASU	
37					ASU	
4	6,47	14			FP	als Sellerie-DNA
7					GI	
32	70,0	151	170	358	MS	als Sellerie-DNA
2	7,88	17	8,75	18	SFA	als Sellerie-DNA
26					SFA-4p	
8	> 0.4		> 0.4		SFA-ID	als Sellerie
12	62,2	134	119	251	SFA-ID	als Sellerie
22					SFA-ID	
23					SFA-ID	
14	1,68	4	1,60	3	SFA-Q	als Sellerie
5					div	
6					div	
17					div	
19					div	
21	10,0	22	15,0	32	div	als Sellerie-DNA, Sellerie-Knolle
25					div	
30					div	
35					div	
40	<100		100	210	div	als Sellerie

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	2	Anzahl im AB	2
Prozent im AB	25	Prozent im AB	25

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Selleriesamen, s. Seite 5
 ** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GI = GEN-IAL First Allergen
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen
 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:

Die Angabe der Wiederfindungsraten für Sellerie mittels PCR-Bestimmung erfolgt ausschließlich informativ, weil einerseits die Bezugsgröße Selleriesamen ist (s. S.5) und andererseits die Angaben der quantitativen Ergebnisse der Teilnehmer teils anderen Bezug haben und teils der Bezug nicht plausibel ist.

4.2 Vergleichsuntersuchung Senf

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
6	negativ	< 2	positiv	48,4	2/2 (100%)	AQ	
7	negativ	0	positiv	> 40	2/2 (100%)	AQ	
33	negativ	< 2	positiv	42,9	2/2 (100%)	AQ	
29	negativ	< 2	positiv	89,6	2/2 (100%)	BC	
13	negativ	0	positiv	93,5	2/2 (100%)	BF	
8	negativ	< 1	positiv	49,0	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
38	negativ	<1.2	positiv	100	2/2 (100%)	IL	
2	negativ	< 0,5	positiv	72,8	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	< 0,5	positiv	56,9		RS-F	
14	negativ	< 0,1	positiv	83,5	2/2 (100%)	RS-F	
17	negativ		positiv		2/2 (100%)	RS-F	
20	negativ	< 0,5	positiv	> 13,5	2/2 (100%)	RS-F	
23	negativ	< 0,5	positiv	83,0	2/2 (100%)	RS-F	
28	negativ	< BG	positiv	110		RS-F	
31	negativ		positiv	96,0	2/2 (100%)	RS-F	
9	negativ	< 2,5	positiv	50,1	2/2 (100%)	VT	
10	negativ	< 2,5	positiv	94,0	2/2 (100%)	VT	
11	negativ	< 2,5	positiv	109		VT	
12	negativ	< 2,5	positiv	82,0	2/2 (100%)	VT	
18	negativ	< NWG	positiv	267	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
27	negativ	< 2,5	positiv	110	2/2 (100%)	VT	
30	negativ	< 2,5	positiv	66,0	2/2 (100%)	VT	
36	negativ	ND	positiv	38,0	2/2 (100%)	VT	
40	negativ	< 2,5	positiv	75,0	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	24
Anzahl negativ	24	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 ES = ELISA-Systems
 IL = Immunolab
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

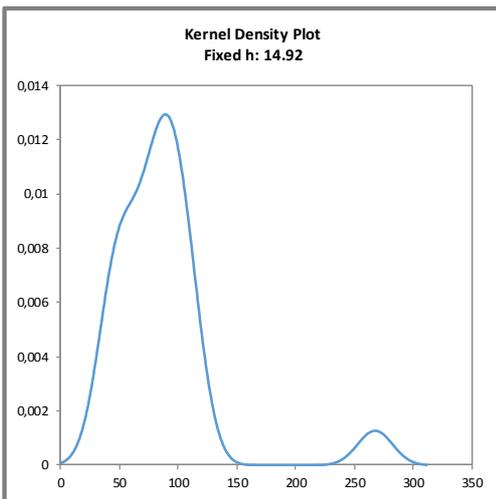
Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Senf [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	z-Score Xpt _{VT}	Methode	Hinweis
6	48,4	-1,6			AQ	
7	> 40				AQ	
33	42,9	-1,8			AQ	
29	89,6	0,50			BC	
13	93,5	0,70			BF	
8	49,0	-1,5			ES	Ergebnis umgerechnet °
38	100	1,0			IL	
2	72,8	-0,34	-0,52		RS-F	
5	56,9	-1,1	-1,3		RS-F	
14	83,5	0,20	-0,01		RS-F	
17					RS-F	
20	> 13,5				RS-F	
23	83,0	0,17	-0,03		RS-F	
28	110	1,5	1,3		RS-F	
31	96,0	0,83	0,59		RS-F	
9	50,1	-1,5		-1,6	VT	
10	94,0	0,72		0,44	VT	
11	109	1,5		1,1	VT	
12	82,0	0,12		-0,13	VT	
18	267	9,4		8,6	VT	Ergebnis umgerechnet °
27	110	1,5		1,2	VT	
30	66,0	-0,68		-0,88	VT	
36	38,0	-2,1		-2,2	VT	
40	75,0	-0,23		-0,46	VT	

° Umrechnung S. 19



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 3:

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 symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter bei ca. 50 mg/kg mit einzelnen Er-

gebnissen der Methoden AQ, ES, RS-F und VT und einem Nebenpeak bei ca. 270 mg/kg (Einzelergebnis Methode VT, ggf. inkorrekte Ergebnisangabe als Protein) (s. Abb. 3).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Senf

Probe B

Kenndaten	Alle Ergebnisse	Methode RS-F	Methode VT
	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$	$X_{pt_METHOD\ VT}$
Anzahl der Messergebnisse	21	6	9
Anzahl der Ausreißer	-	-	-
Mittelwert	86,5	83,7	99,0
Median	83,0	83,3	82,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	79,6	83,7	84,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	28,1	20,8	36,0
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	19,9	20,9	21,2
Untere Grenze des Zielbereichs	39,8	41,9	42,4
Obere Grenze des Zielbereichs	119	126	127
Quotient S^*/σ_{pt}	1,4	0,99	1,7
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	7,68	10,6	15,0
Ergebnisse im Zielbereich	19	6	7
Prozent im Zielbereich	90	100	78

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast
VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS-F und von Methode VT zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils 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.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 132%, 139% bzw. 140% vom Zusatzniveau von Senf zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten ELISA für Senf" S.35).

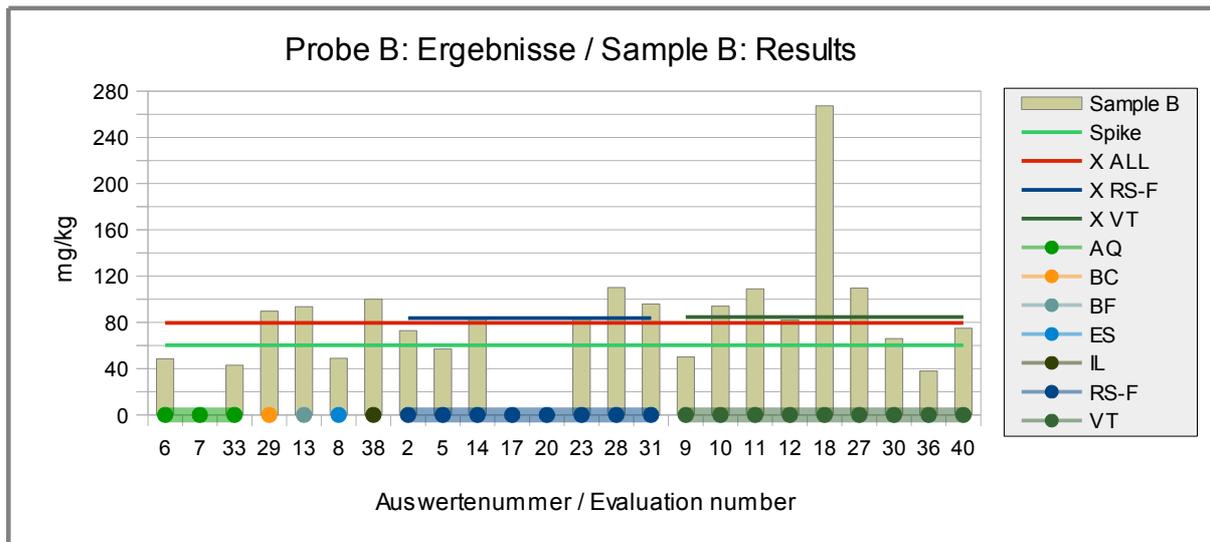


Abb./Fig. 4: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

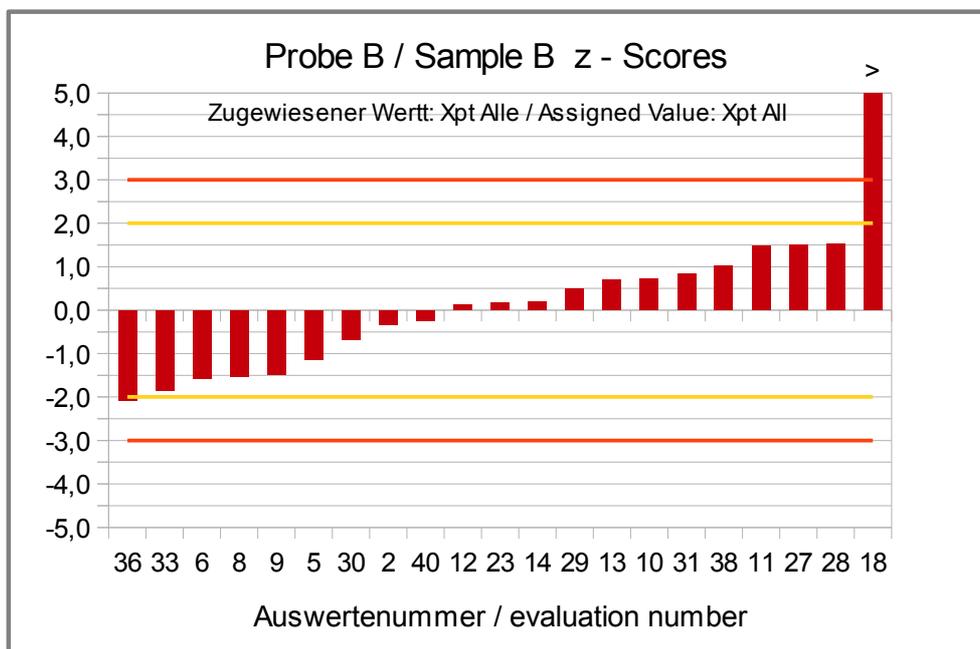


Abb./Fig. 5: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

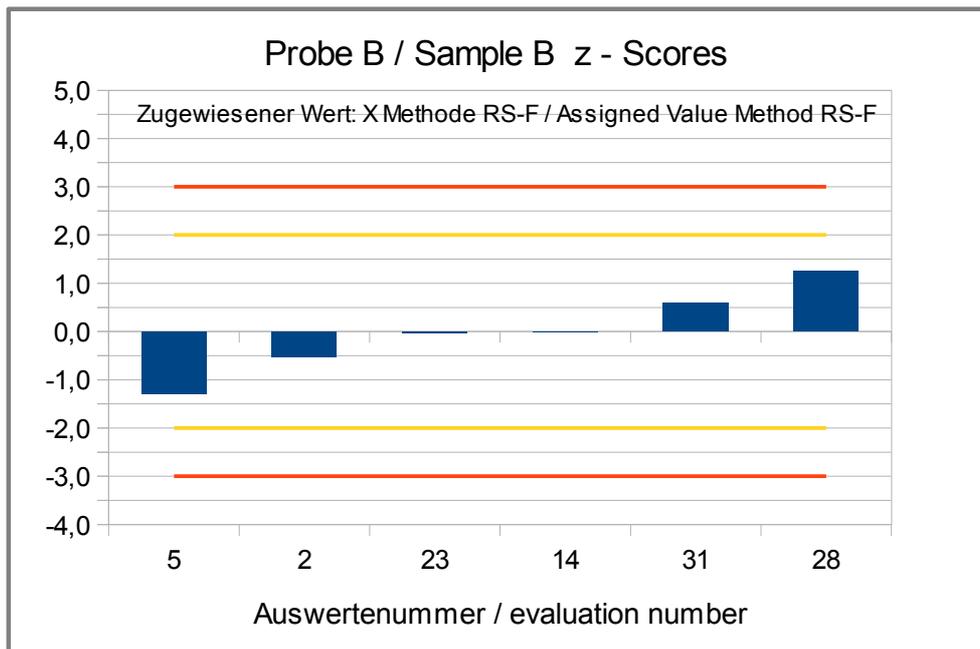


Abb./Fig. 6:

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

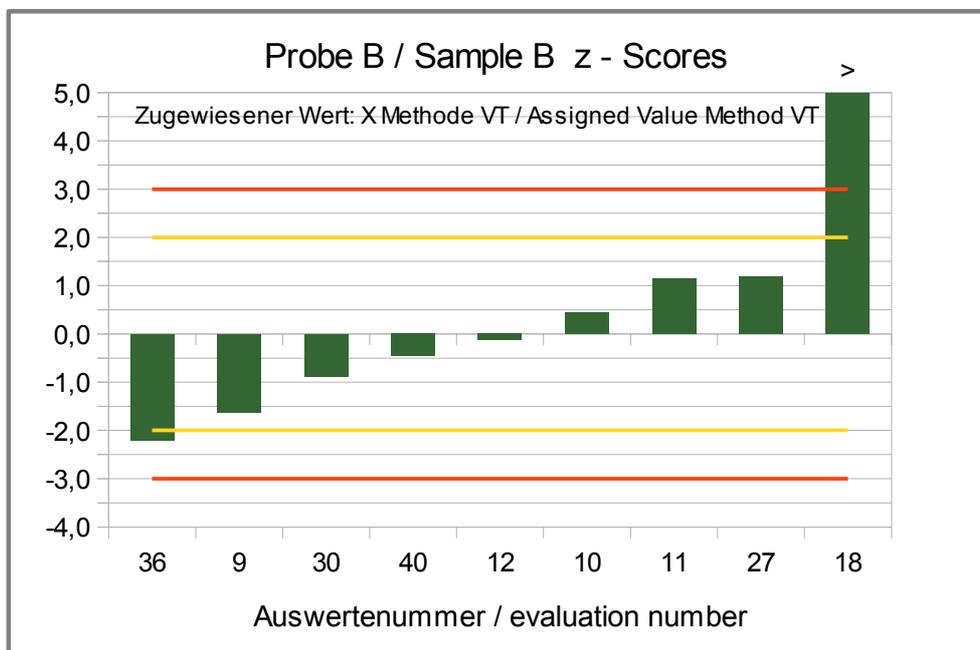


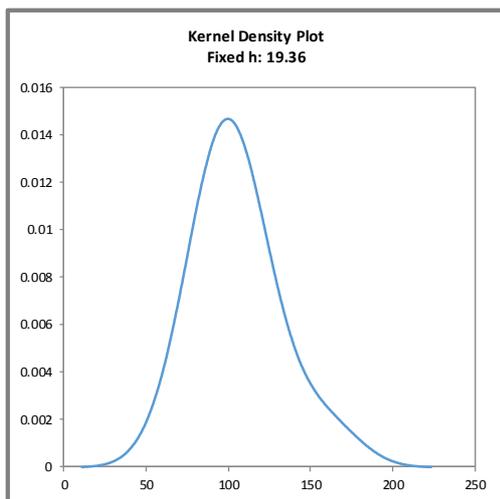
Abb./Fig. 7:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Senf [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	z-Score Xpt _{VT}	Methode	Hinweis
6	166	2,4			AQ	
7	> 40				AQ	
33	151	1,8			AQ	
29	101	-0,09			BC	
13	87,9	-0,59			BF	
8	68,6	-1,3			ES	Ergebnis umgerechnet °
38	125	0,84			IL	
2	108	0,18	0,22		RS-F	
5	99,2	-0,16	-0,12		RS-F	
14	112	0,33	0,37		RS-F	
17					RS-F	
20	> 13,5				RS-F	
23	79,0	-0,94	-0,91		RS-F	
28	110	0,27	0,31		RS-F	
31	98,9	-0,17	-0,13		RS-F	
9	84,0	-0,75		-0,66	VT	
10	118	0,55		0,68	VT	
11	126	0,88		1,0	VT	
12	102	-0,05		0,06	VT	
18					VT	
27	93,7	-0,37		-0,27	VT	
30	100	-0,13		-0,02	VT	
36	87,0	-0,63		-0,54	VT	
40	95,0	-0,32		-0,22	VT	

° Umrechnung S. 19



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 8:

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 symmetrische Verteilung.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Senf**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]	Methode VT [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$	$X_{pt_METHOD\ VT}$
Anzahl der Messergebnisse	20	6	8
Anzahl der Ausreißer	-	-	-
Mittelwert	106	101	101
Median	100	104	97,5
Robuster Mittelwert (X_{pt})	103	102	100
Robuste Standardabweichung (S^*)	19,4	11,1	16,0
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	25,8	25,6	25,1
Untere Grenze des Zielbereichs	51,6	51,2	50,2
Obere Grenze des Zielbereichs	155	153	151
Quotient S^*/σ_{pt}	0,75	0,43	0,64
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,41	5,65	7,08
Ergebnisse im Zielbereich	19	6	8
Prozent im Zielbereich	95	100	100

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden sowie für Methode RS-F und Methode VT zeigte jeweils eine geringe Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen 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 vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 175%, 173% bzw. 170% vom Zusatzniveau von Senf zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten ELISA für Senf", s.S.35).

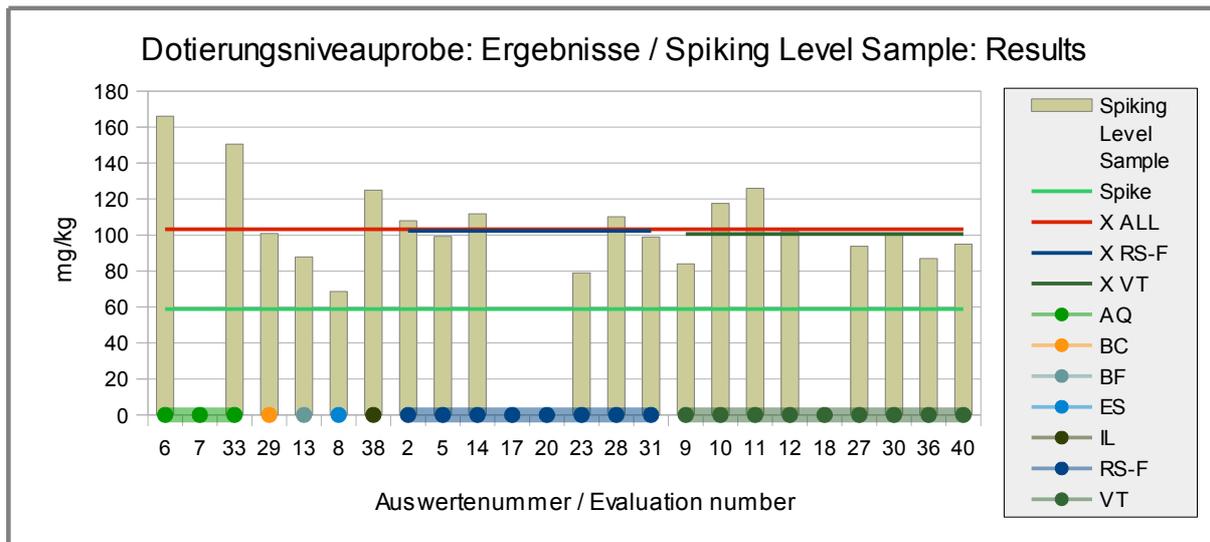


Abb./Fig. 9: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

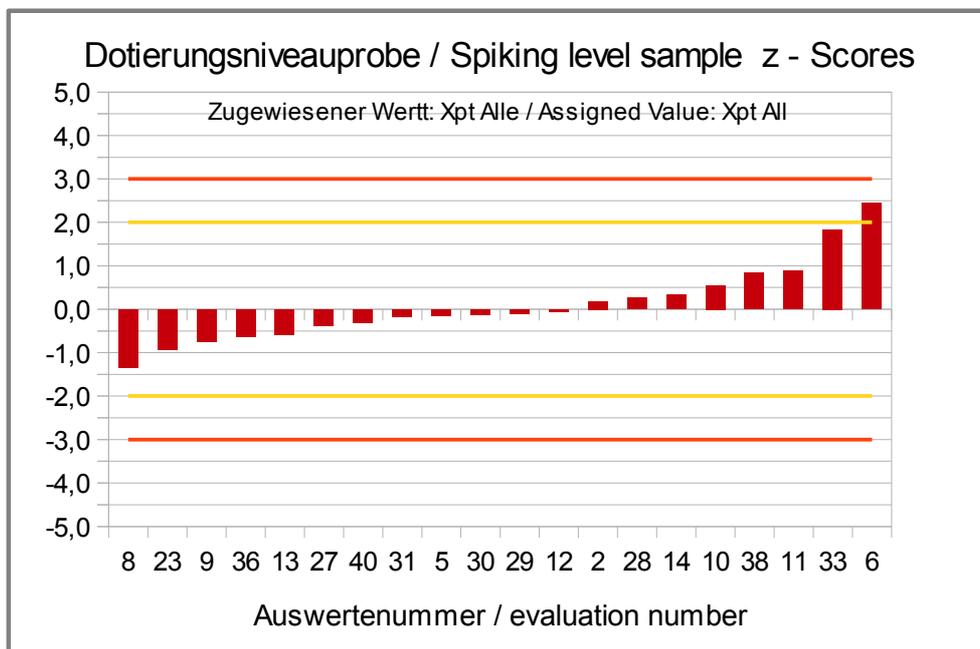


Abb./Fig. 10: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

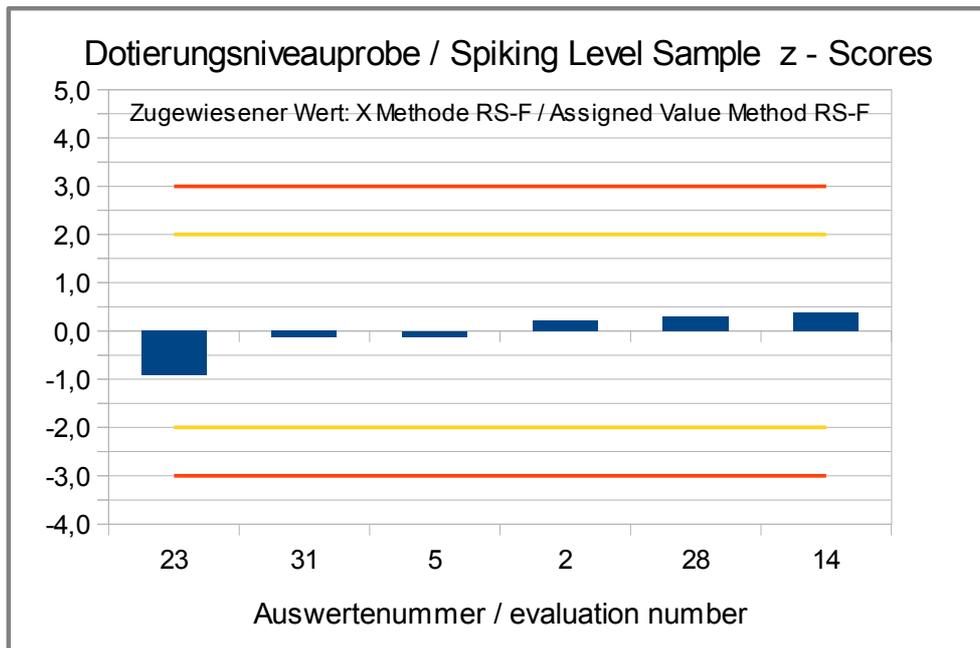


Abb./Fig. 11:

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

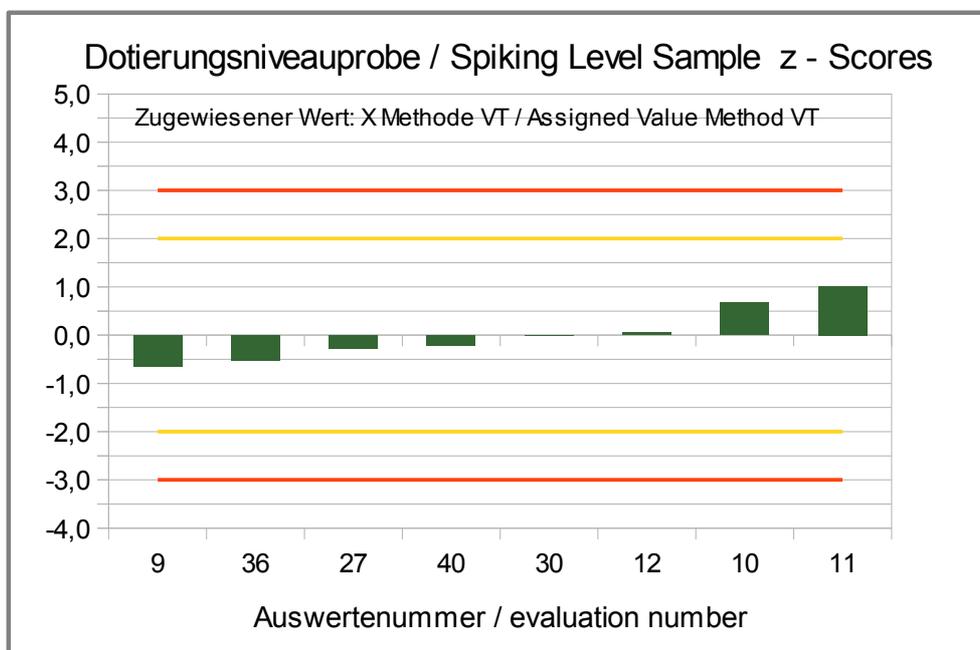


Abb./Fig. 12:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	Wiederfindungsrate* [%]	Probe B [mg/kg]	Wiederfindungsrate* [%]	Methode	Hinweis
6	166	282	48,4	80	AQ	
7	> 40		> 40		AQ	
33	151	256	42,9	71	AQ	
29	101	171	89,6	149	BC	
13	87,9	149	93,5	155	BF	
8	68,6	117	49,0	81	ES	Ergebnis umgerechnet °
38	125	213	100	166	IL	
2	108	184	72,8	121	RS-F	
5	99,2	169	56,9	94	RS-F	
14	112	190	83,5	138	RS-F	
17					RS-F	
20	> 13,5		> 13,5		RS-F	
23	79,0	134	83,0	138	RS-F	
28	110	187	110	183	RS-F	
31	98,9	168	96,0	159	RS-F	
9	84,0	143	50,1	83	VT	
10	118	200	94,0	156	VT	
11	126	214	109	181	VT	
12	102	173	82,0	136	VT	
18			267	443	VT	Ergebnis umgerechnet °
27	93,7	159	110	182	VT	
30	100	170	66,0	109	VT	
36	87,0	148	38,0	63	VT	
40	95,0	162	75,0	124	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	5	Anzahl im AB	13
Prozent im AB	25	Prozent im AB	62

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 ES = ELISA-Systems
 IL = Immunolab
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

25% (5) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 62% (13) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
3	negativ	< 31	positiv	> 400	2/2 (100%)	ASU	Senf, w eiß (als brauner oder schw arzer Senf: Probe A <4,7 mg/kg)
15	negativ		positiv	66,6	2/2 (100%)	ASU	
24	negativ		positiv	114	2/2 (100%)	ASU	
28	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
7	negativ		positiv		2/2 (100%)	GI	
32	negativ		positiv	30,0	2/2 (100%)	MS	
2	negativ	< 1,0	positiv	17,8	2/2 (100%)	SFA	
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
8	negativ	< 0,4	positiv	> 0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
12	negativ	< 1	positiv	29,8	2/2 (100%)	SFA-ID	
22	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
21	negativ		positiv	120	2/2 (100%)	div	
25	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
30	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
34	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
37	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
35a	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
35b	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	Senf braun und/oder schw arz
40a	negativ	< 10	negativ	< 10	1/2 (50%)	div	Senf braun
40b	negativ	< 100	positiv	< 400	2/2 (100%)	div	Senf gelb

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	19
Anzahl negativ	21	2
Prozent positiv	0	90
Prozent negativ	100	10
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B mit gelbem Senf. Zwei negative Ergebnisse für Probe B wurden mit für braunen und/oder schwarzen Senf spezifischen PCR-Methoden erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

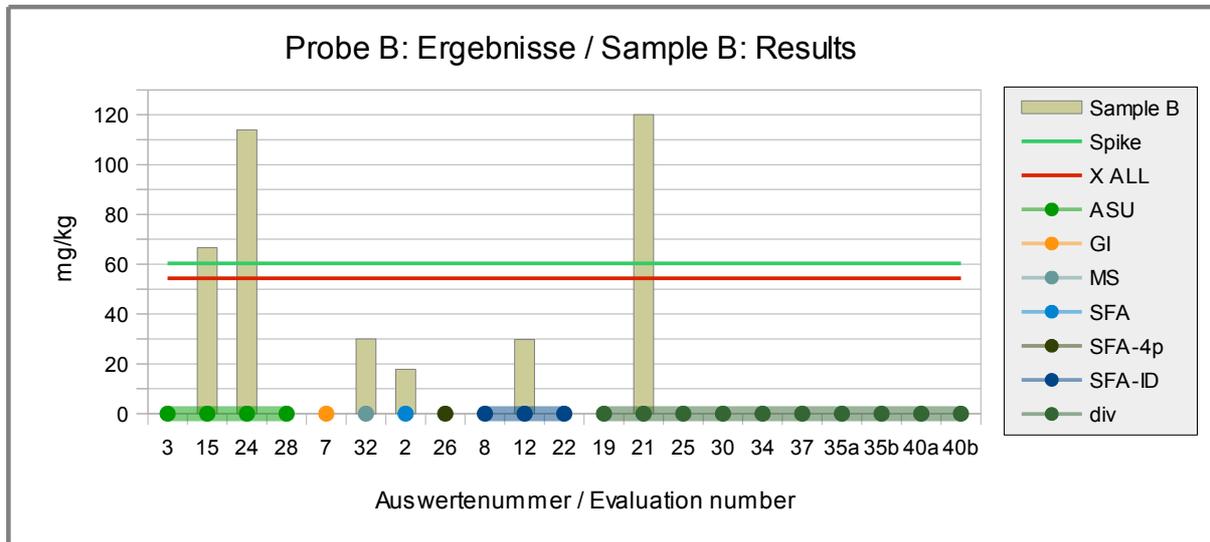


Abb./Fig. 13: PCR-Ergebnisse Senf (Probe B)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

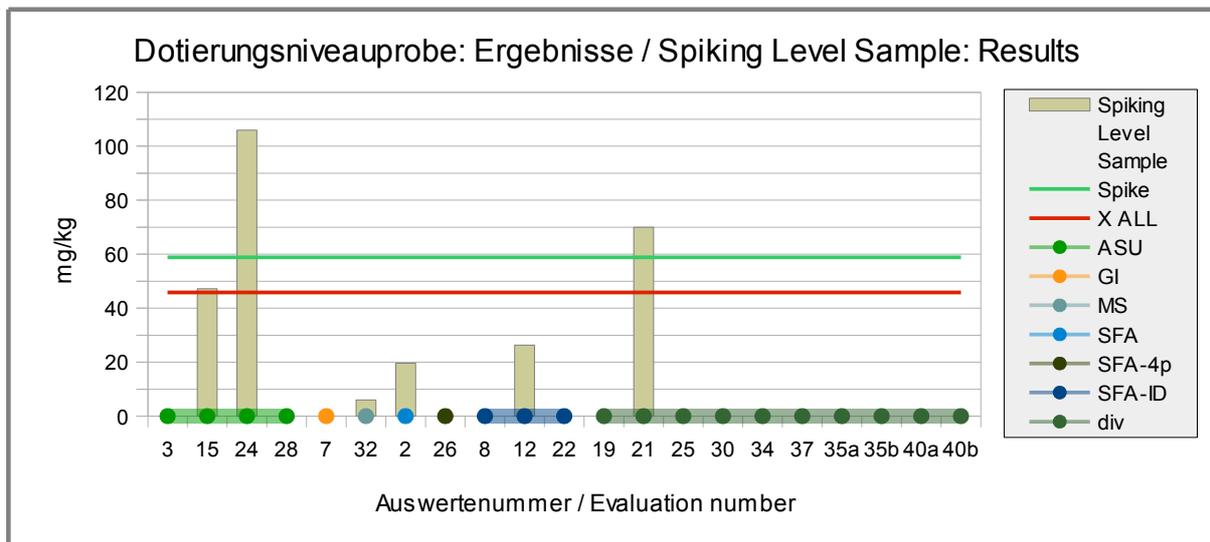


Abb./Fig. 14: PCR-Ergebnisse Senf (Dotierungsniveauprobe)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Aufgrund der hohen Streuung und der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte keine statistische Auswertung. Zudem wurden die quantitativen PCR-Ergebnisse für Senf teilweise unklar bzw. nicht plausibel als Senf-DNA angegeben.

Auswertenummer	Senf pos/neg	Senf [mg/kg]	z-Score X _{pt,ALL}	Methode	Hinweis
3	positiv	> 400		ASU	Senf, weiß
15	positiv	47,2		ASU	Senf
24	positiv	106		ASU	Senfsaat, weiß
28	positiv			ASU	
7	positiv			GI	
32	positiv	6,00		MS	Senf-DNA
2	positiv	19,6		SFA	Senf-DNA
26	positiv			SFA-4p	
8	positiv	> 0.4		SFA-ID	
12	positiv	26,3		SFA-ID	Senf
22				SFA-ID	
19	positiv			div	
21	positiv	70,0		div	Senf-DNA, gelber Senf
25	positiv			div	
30	positiv			div	
34	positiv			div	
37	positiv			div	
35a	positiv			div	
35b	positiv			div	Senf, braun und schwarz
40a	negativ	< 10		div	Senf braun
40b	positiv	< 400		div	Senf gelb

Anzahl positiv	19	
Anzahl negativ	1	
Prozent positiv	95	
Prozent negativ	5	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 GI = GEN-IAL First Allergen
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

**Wiederfindungsraten PCR für Senf (ausschließlich informativ):
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
3	> 400		> 400		ASU	Senf, w weiß
15	47,2	80	66,6	110	ASU	Senf
24	106	180	114	189	ASU	Senfsaat, w weiß
28					ASU	
7					GI	
32	6,00	10	30,0	50	MS	Senf-DNA
2	19,6	33	17,8	30	SFA	Senf-DNA
26					SFA-4p	
8	> 0.4		> 0.4		SFA-ID	
12	26,3	45	29,8	49	SFA-ID	Senf
22					SFA-ID	
19					div	
21	70,0	119	120	199	div	Senf-DNA, gelber Senf
25					div	
30					div	
34					div	
37					div	
35a					div	
35b					div	
40a	< 10		< 10		div	Senf braun
40b	< 400		< 400		div	Senf gelb

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	2	Anzahl im AB	2
Prozent im AB	33	Prozent im AB	33

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Angabe der Wiederfindungsraten für Senf mittels PCR-Bestimmung erfolgt ausschließlich informativ, weil einerseits die Bezugsgröße Senfsamen (*Sinapis alba*) ist (s. S.5) und andererseits die Angaben der quantitativen Ergebnisse der Teilnehmer teils anderen Bezug haben bzw. der Bezug nicht plausibel ist (Angabe als DNA).

4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[m g/kg]	pos/neg	[m g/kg]			
6	negativ	< 2	positiv	24,5	2/2 (100%)	AQ	
7	negativ	0	positiv	> 30	2/2 (100%)	AQ	
5	negativ	< 2,0	positiv	29,1	2/2 (100%)	BC	
29	negativ	< 2	positiv	21,8	2/2 (100%)	BC	
13	negativ	0	positiv	35,3	2/2 (100%)	BF	
10	negativ	< 2,0	positiv	22,5	2/2 (100%)	EF	
30	negativ	< 2	positiv	26,0	2/2 (100%)	EF	
33	negativ	< 2	positiv	26,0	2/2 (100%)	EF	
8	negativ	< 0,55	positiv	30,0	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
18	negativ	< LOD	positiv	3,52	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
9	negativ	< 1.1	positiv	37,8	2/2 (100%)	ES-n	Ergebnis umgerechnet °
36	negativ	ND	positiv	30,9	2/2 (100%)	ES-n	Ergebnis umgerechnet °
38	negativ	< 0,5	positiv	27,0	2/2 (100%)	IL	
17	negativ		positiv		2/2 (100%)	NL	
28	negativ	< BG	positiv	27,3	2/2 (100%)	NL-E	
1	negativ	< 2,5	positiv	89,0	2/2 (100%)	RS-F	
3	negativ	< 2,5	positiv	89,0	2/2 (100%)	RS-F	
12	negativ	< 2,5	positiv	64,8	2/2 (100%)	RS-F	
14	negativ	< 0,14	positiv	78,0	2/2 (100%)	RS-F	
20	negativ	< 2,5	positiv	> 20	2/2 (100%)	RS-F	
22	negativ		positiv	58,0	2/2 (100%)	RS-F	
23	negativ	< 2,5	positiv	120	2/2 (100%)	RS-F	
27	negativ	< 2,5	positiv	99,8	2/2 (100%)	RS-F	
31	negativ		positiv	103	2/2 (100%)	RS-F	
39	negativ		positiv	30,0	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
11	negativ	< 2,5	positiv	165	2/2 (100%)	VT	
16	negativ	< 2,5	positiv	228	2/2 (100%)	VT	
40	negativ	< 2,5	positiv	170	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	28
Anzahl negativ	28	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = Eurofins Technologies
- ES = ELISA Systems
- ES-n = ELISA Systems neu
- IL = Immunolab
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
- RS-F = Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit Probe B.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Sesam	z-Score Xpt _{ALL30}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
6	24,5	-0,41		AQ	
7	> 30			AQ	
5	29,1	0,26		BC	
29	21,8	-0,81		BC	
13	35,3	1,2		BF	
10	22,5	-0,70		EF	
30	26,0	-0,19		EF	
33	26,0	-0,19		EF	
8	30,0	0,40		ES	Ergebnis umgerechnet °
18	3,52	-3,5		ES	Ergebnis umgerechnet °
9	37,8	1,5		ES-n	Ergebnis umgerechnet °
36	30,9	0,53		ES-n	Ergebnis umgerechnet °
38	27,0	-0,05		IL	
17				NL	
28	27,3	0,00		NL-E	
1	89,0		0,32	RS-F	
3	89,0		0,32	RS-F	
12	64,8		-0,86	RS-F	
14	78,0		-0,22	RS-F	
20	> 20			RS-F	
22	58,0		-1,2	RS-F	
23	120		1,8	RS-F	
27	99,8		0,84	RS-F	
31	103		1,0	RS-F	
39	30,0		-2,5	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
11	165			VT	
16	228			VT	
40	170			VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 EF = Eurofins Technologies
 ES = ELISA Systems
 ES-n = ELISA Systems neu
 IL = Immunolab
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
 NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen: nächste Seite

Die Kerndichte-Schätzung (Abb. 15) und die Darstellung der Ergebnisse (Abb. 16) zeigen eine deutliche methodenabhängige Verteilung der Ergebnisse, sodass keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen wurde. Es wurde nur eine gemeinsame Auswertung der Methoden vorgenommen, deren Ergebnisse auf den Hauptpeak bei ca. 30 mg/kg entfallen. Zusätzlich wurde für die Methoden ab 5 quantitativen Ergebnissen eine Einzelauswertung vorgenommen (Methode RS-F).

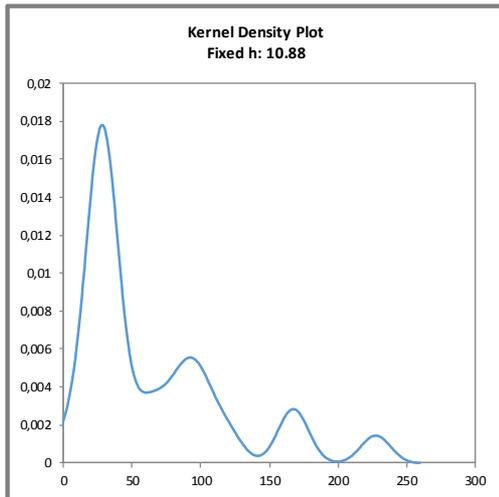


Abb. / Fig. 15:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt einen Hauptpeak bei ca. 30 mg/kg. Ein weiteres Maximum bei ca. 100 mg/kg geht auf Ergebnisse der Methode RS-F zurück und zwei kleinere Nebenpeaks bei ca. 170 und 225 mg/kg sind Ergebnisse der Methode VT.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam

Probe B

Kenndaten	Meth. Peak 30 [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL30}	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	13	9
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	26,3	81,3
Median	27,0	89,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	27,3	82,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	5,61	28,2
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	6,83	20,6
Untere Grenze des Zielbereichs	13,7	41,2
Obere Grenze des Zielbereichs	41,0	124
Quotient S^*/σ_{pt}	0,82	1,4
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,95	11,8
Ergebnisse im Zielbereich	12	8
Prozent im Zielbereich	92	89

Methoden:

Peak 30 = AgraQuant, BioCheck, BioFront Technologies, Eurofins Technologies, ELISA Systems (2 Methoden), Immunolab, Nutrilinia (2 Methoden)
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte klar methodenabhängige Unterschiede, daher wurde keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen. Die Auswertung erfolgte für alle Ergebnisse des Hauptpeaks ("Peak 30") sowie einzeln für die Methode RS-F mit mehr als 5 Einzelergebnissen.

Die Auswertung der Ergebnisse von Peak 30 sowie für Methode RS-F zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen deutlich unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

Der robuste Mittelwert der Auswertung der Methoden von Peak 30 lag mit 72% vom Zusatzniveau von Sesam zu Probe B innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden. Für Methode RS-F lag der robuste Mittelwert mit 218% deutlich oberhalb dieses Bereichs (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten ELISA für Sesam", s.S.58).

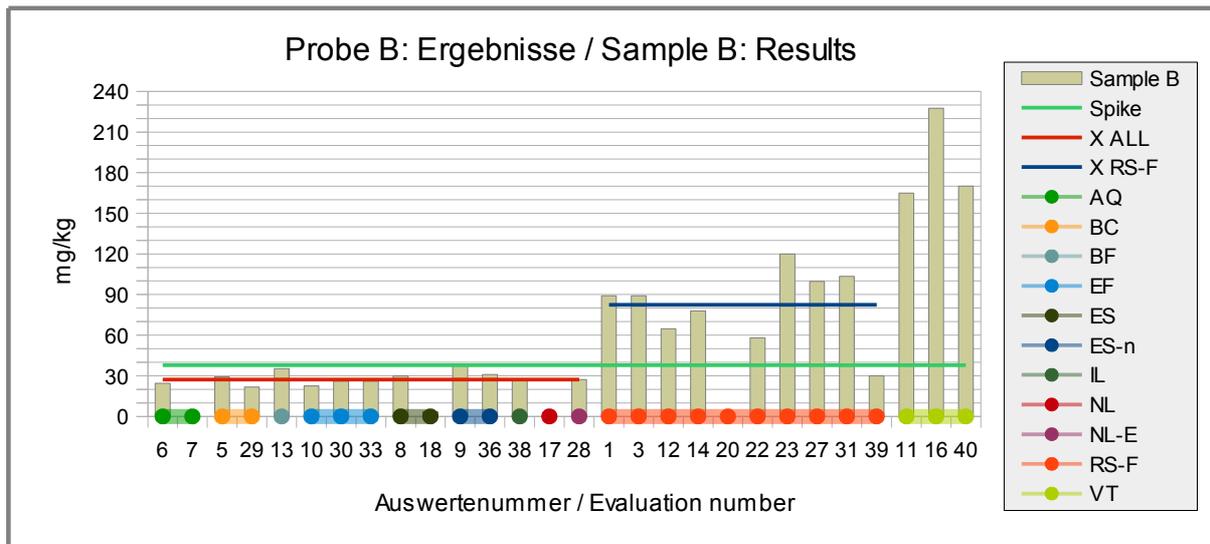


Abb./Fig. 16: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von "Peak 30"
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

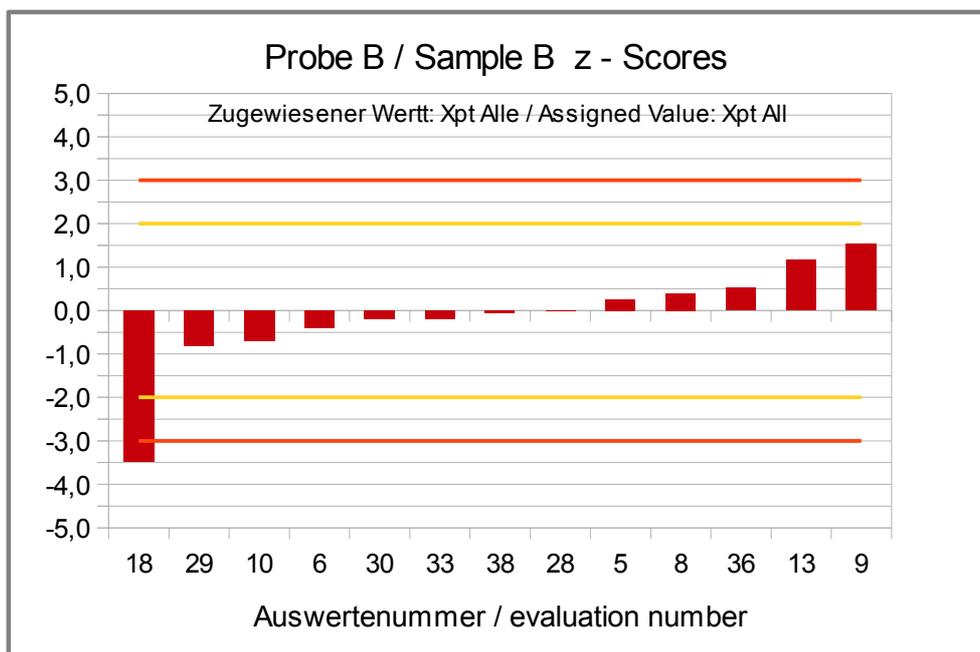


Abb./Fig. 17:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von "Peak 30"

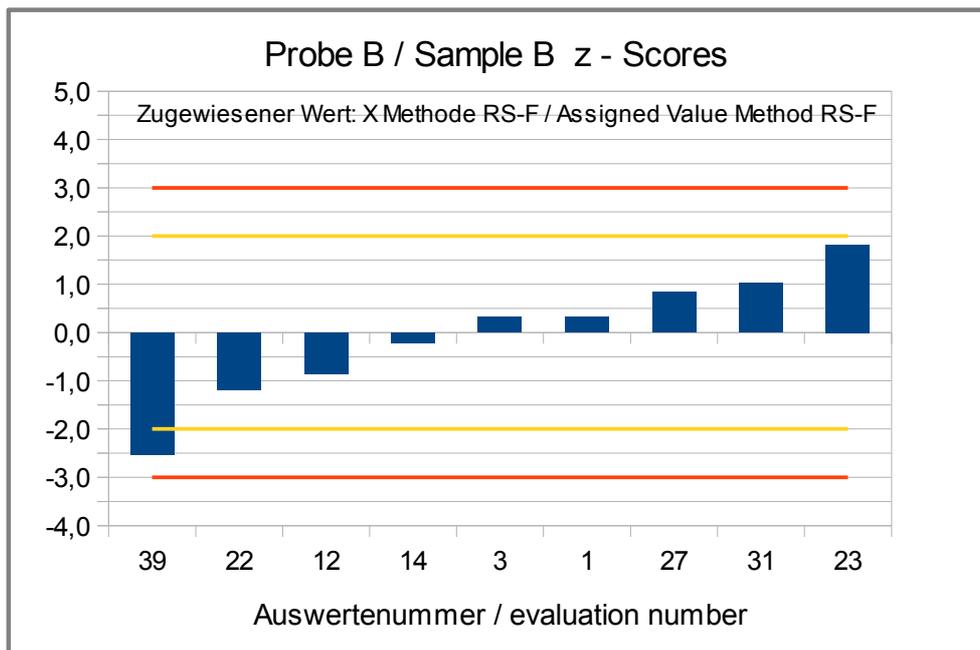


Abb./Fig. 18:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Sesam	z-Score Xpt _{ALL30}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
6	25,1	-1,1		AQ	
7	> 30			AQ	
5	49,2	1,7		BC	
29	28,5	-0,69		BC	
13	62,6	3,3		BF	
10	22,5	-1,4		EF	
30	31,0	-0,40		EF	
33	29,0	-0,63		EF	
8	33,0	-0,16		ES	Ergebnis umgerechnet °
18				ES	Ergebnis umgerechnet °
9	50,2	1,8		ES-n	Ergebnis umgerechnet °
36				ES-n	Ergebnis umgerechnet °
38	29,0	-0,63		IL	
17				NL	
28	29,0	-0,63		NL-E	
1	94,0		-0,27	RS-F	
3	94,0		-0,27	RS-F	
12	115		0,56	RS-F	
14	110		0,36	RS-F	
20	> 20			RS-F	
22	83,5		-0,69	RS-F	
23	120		0,76	RS-F	
27	104		0,13	RS-F	
31	113		0,47	RS-F	
39	30,0		-2,8	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
11	189			VT	
16	266			VT	
40	190			VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

EF = Eurofins Technologies

ES = ELISA Systems

ES-n = ELISA Systems neu

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen: nächste Seite

Die Kerndichte-Schätzung (Abb. Fehler: Referenz nicht gefunden) und die Darstellung der Ergebnisse (Abb. 16) zeigen eine deutliche methodenabhängige Verteilung der Ergebnisse, sodass keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen wurde. Es wurde nur eine gemeinsame Auswertung der Methoden vorgenommen, deren Ergebnisse auf den Hauptpeak bei ca. 30 mg/kg entfallen. Zusätzlich wurde für die Methoden ab 5 quantitativen Ergebnissen eine Einzelauswertung vorgenommen (Methode RS-F).

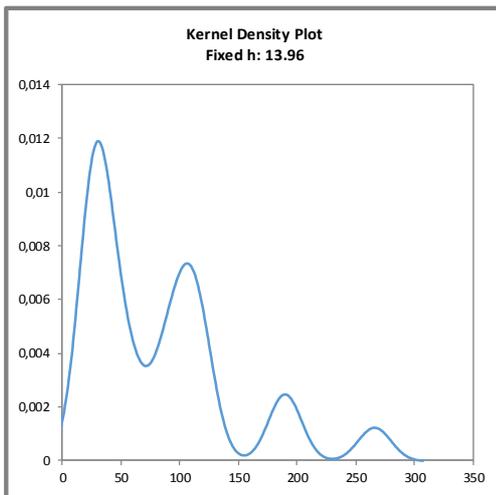


Abb. / Fig. 19:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt einen Hauptpeak bei ca. 30 mg/kg. Ein weiteres Maximum bei ca. 110 mg/kg geht auf Ergebnisse der Methode RS-F zurück und zwei kleinere Nebenpeaks bei ca. 190 und 270 mg/kg sind Ergebnisse der Methode VT.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Meth. Peak 30 [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL30}	$X_{pt}_{METHOD RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	11	9
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	35,4	96
Median	29,0	104
Robuster Mittelwert (X_{pt})	34,4	101
Robuste Standardabweichung (S^*)	12,2	17,4
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	8,61	25,2
Untere Grenze des Zielbereichs	17,2	50,5
Obere Grenze des Zielbereichs	51,7	151
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	<i>1,4</i>	<i>0,69</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>4,59</i>	<i>7,24</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>10</i>	<i>8</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>91</i>	<i>89</i>

Methoden:

Peak 30 = AgraQuant, BioCheck, BioFront Technologies, Eurofins Technologies, ELISA Systems (2 Methoden), Immunolab, Nutrilinia (2 Methoden)
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte klar methodenabhängige Unterschiede, daher wurde keine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller Methoden vorgenommen. Die Auswertung erfolgte für alle Ergebnisse des Hauptpeaks ("Peak 30") sowie einzeln für die Methode RS-F mit mehr als 5 Einzelergebnissen.

Die Auswertung der Ergebnisse von Peak 30 sowie für Methode RS-F zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen deutlich unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

Der robuste Mittelwert der Auswertung der Methoden von Peak 30 lag mit 94% vom Zusatzniveau von Sesam zu Probe B innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden. Für Methode RS-F lag der robuste Mittelwert mit 274% deutlich oberhalb dieses Bereichs (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten ELISA für Sesam", s.S.58).

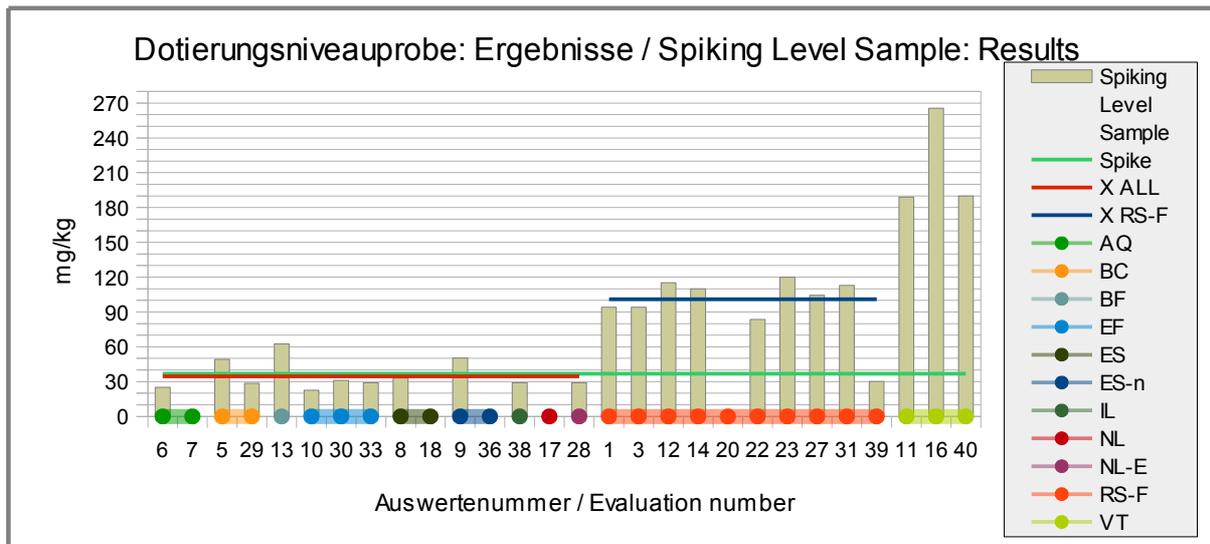


Abb./Fig. 20: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (ohne RS-F, VT)
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

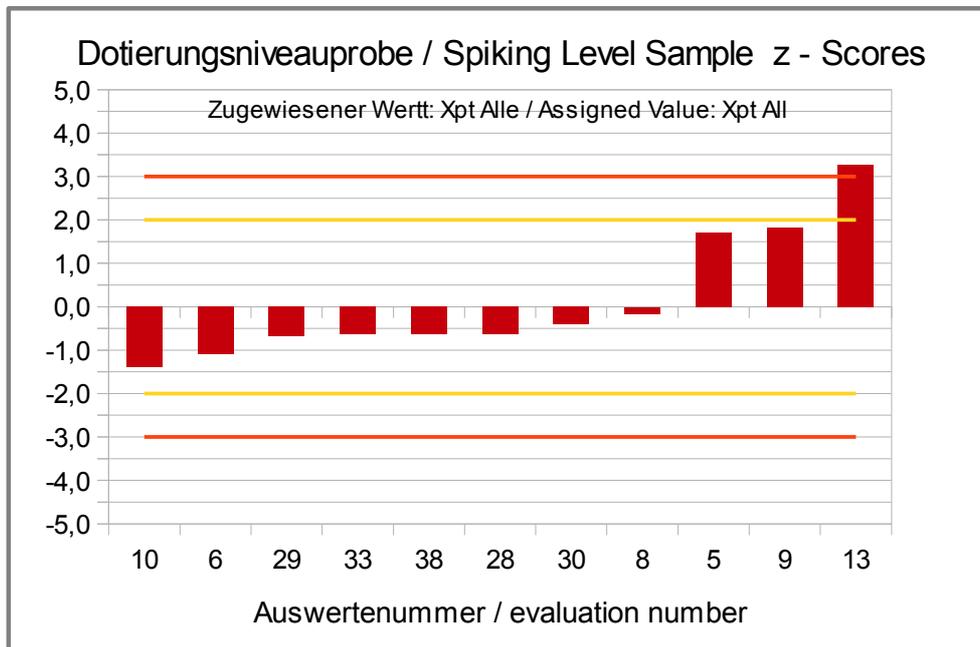


Abb./Fig. 21:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 30

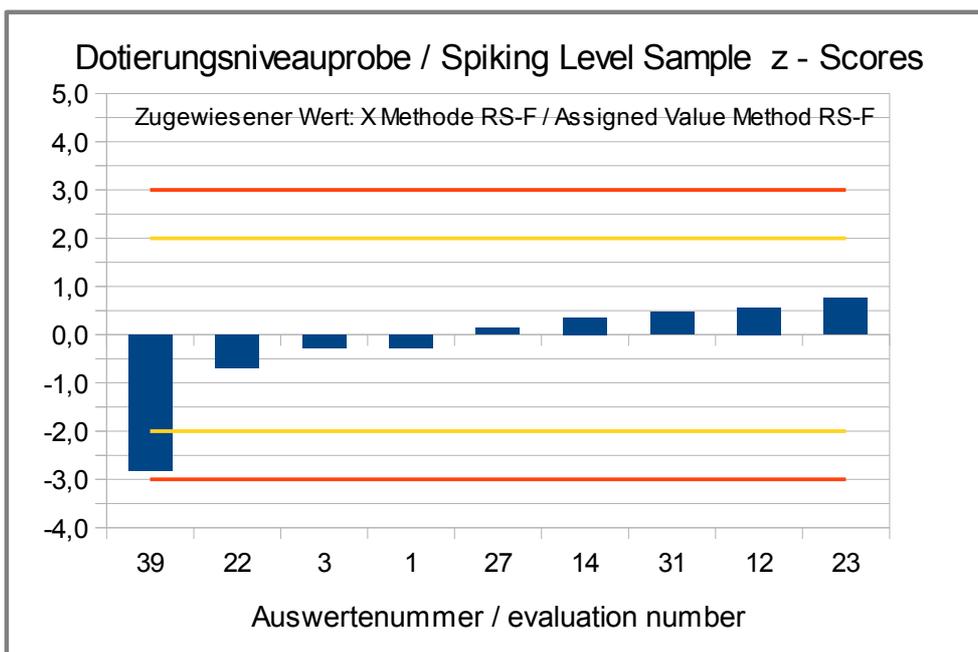


Abb./Fig. 22:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert für Methode RS-F

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
6	25,1	68	24,5	65	AQ	
7	> 30		> 30		AQ	
5	49,2	134	29,1	77	BC	
29	28,5	77	21,8	58	BC	
13	62,6	170	35,3	93	BF	
10	22,5	61	22,5	60	EF	
30	31,0	84	26,0	69	EF	
33	29,0	79	26,0	69	EF	
8	33,0	90	30,0	80	ES	Ergebnis umgerechnet °
18			3,52	9	ES	Ergebnis umgerechnet °
9	50,2	136	37,8	100	ES-n	Ergebnis umgerechnet °
36			30,9	82	ES-n	Ergebnis umgerechnet °
38	29,0	79	27,0	71	IL	
17					NL	
28	29,0	79	27,3	72	NL-E	
1	94,0	255	89,0	236	RS-F	
3	94,0	255	89,0	236	RS-F	
12	115	313	64,8	172	RS-F	
14	110	298	78,0	206	RS-F	
20	> 20		> 20		RS-F	
22	83,5	227	58,0	154	RS-F	
23	120	326	120	318	RS-F	
27	104	283	99,8	264	RS-F	
31	113	306	103	274	RS-F	
39	30,0	82	30,0	80	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
11	189	513	165	437	VT	
16	266	721	228	603	VT	
40	190	516	170	450	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	11	Anzahl im AB	13
Prozent im AB	48	Prozent im AB	52

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = Eurofins Technologies
- ES = ELISA Systems
- ES-n = ELISA Systems neu
- IL = Immunolab
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

48% (11) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 52% (13) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die Ergebnisse der Methoden RS-F und VT lagen mit einer Ausnahme deutlich über dem Akzeptanzbereich.

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
24	negativ		positiv	56,6	2/2 (100%)	ASU	
31	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
7	negativ		positiv		2/2 (100%)	GI	
32	negativ		positiv	2,00	2/2 (100%)	MS	
2	negativ	< 1,0	positiv	7,18	2/2 (100%)	SFA	
8	negativ	< 0,4	positiv	> 0,4	2/2 (100%)	SFA-ID	
15	negativ		positiv	> 10	2/2 (100%)	SFA-ID	
22	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
26	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
34	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	
19	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	
21	negativ		positiv	30,0	2/2 (100%)	div	
25	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
28	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
30	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
30	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
35	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
37	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
40	negativ	< 100	positiv	100	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	18
Anzahl negativ	19	1
Prozent positiv	0	95
Prozent negativ	100	5
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 GI = GEN-IAL First Allergen
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Für Probe B wurde ein negatives Ergebnis erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

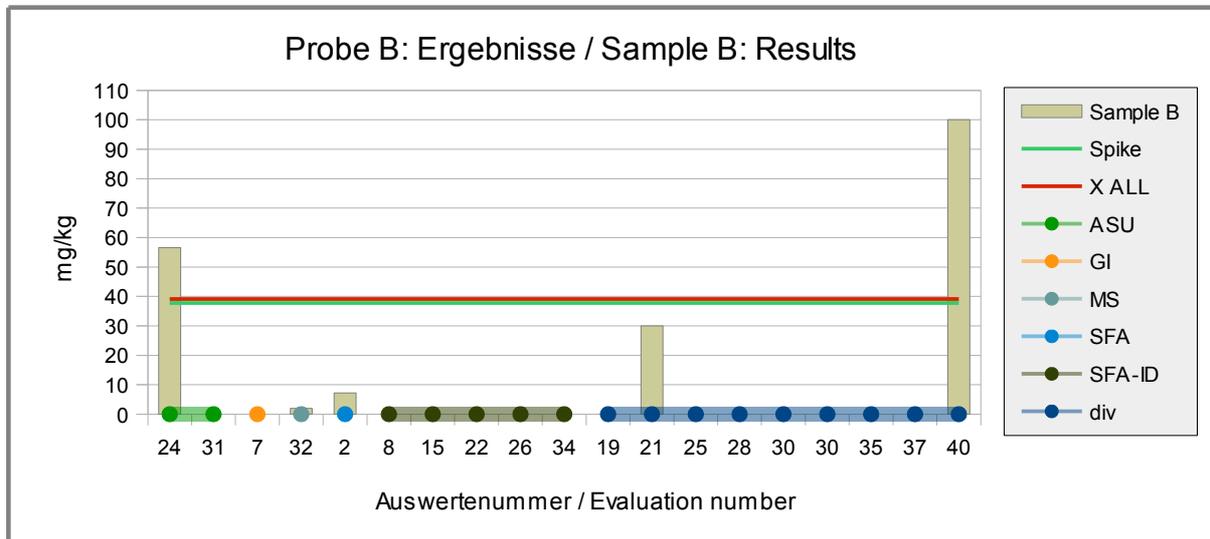


Abb./Fig. 23: PCR-Ergebnisse Sesam (Probe B)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

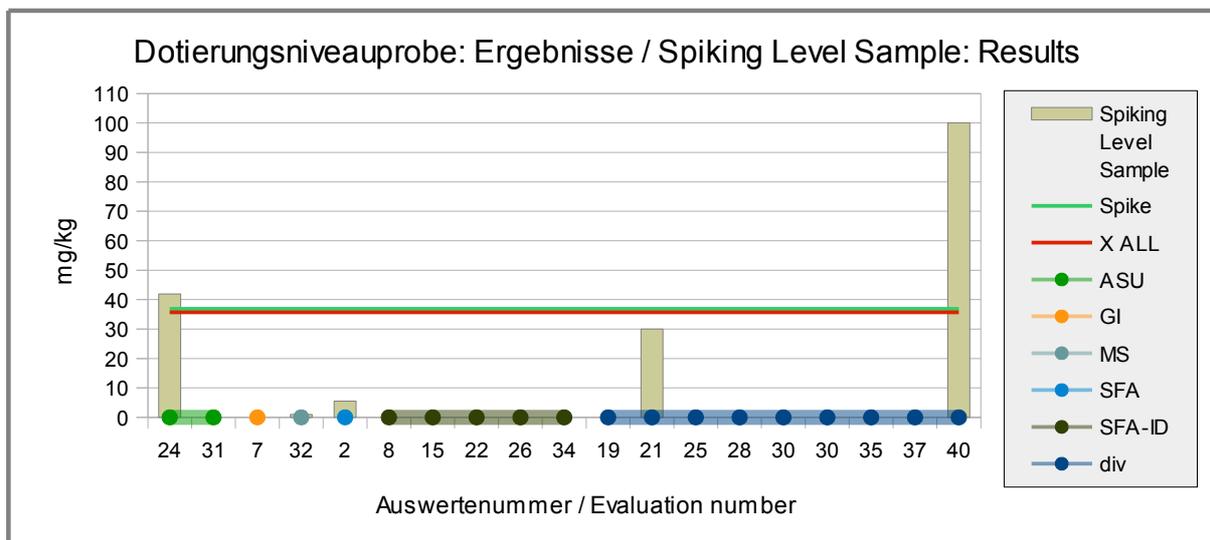


Abb./Fig. 24: PCR-Ergebnisse Sesam (Dotierungsniveauprobe)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse (informativ)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Aufgrund der hohen Streuung und der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte keine statistische Auswertung. Zudem wurden die quantitativen PCR-Ergebnisse für Sesam teilweise unklar bzw. nicht plausibel als Sesam-DNA angegeben.

Auswertenummer	Sesam pos/neg	Sesam [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
24	positiv	41,9		ASU	Sesam
31	positiv			ASU	
7	negativ			GI	
32	positiv	1,00		MS	Sesam-DNA
2	positiv	5,50		SFA	Sesam-DNA
8	positiv	> 0,4		SFA-ID	Sesam
15	positiv	> 10		SFA-ID	Sesam
22				SFA-ID	
26	positiv			SFA-ID	
34	positiv			SFA-ID	
19	positiv			div	
21	positiv	30,0		div	Sesam-DNA, Sesamsaat
25	positiv			div	
28	positiv			div	
30	positiv			div	
30	positiv			div	
35	positiv			div	
37	positiv			div	
40	positiv	100		div	Sesam

Anzahl positiv	17	
Anzahl negativ	1	
Prozent positiv	94	
Prozent negativ	6	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

**Wiederfindungsraten PCR für Sesam (ausschließlich informativ):
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
24	41,9	114	56,6	150	ASU	Sesam
31					ASU	
7					GI	
32	1,00	2,7	2,00	5	MS	Sesam-DNA
2	5,50	15	7,18	19	SFA	Sesam-DNA
8	> 0,4		> 0,4		SFA-ID	Sesam
15	> 10		> 10		SFA-ID	Sesam
22					SFA-ID	
26					SFA-ID	
34					SFA-ID	
19					div	
21	30,0	81	30	79	div	Sesam-DNA, Sesamsaat
25					div	
28					div	
30					div	
30					div	
35					div	
37					div	
40	100	272	100	265	div	Sesam

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Angabe der Wiederfindungsraten für Sesam mittels PCR-Bestimmung erfolgt ausschließlich informativ, weil die Bezugsgröße Sesam ist (s. S.5) und die Angaben der quantitativen Ergebnisse der Teilnehmer teils anderen Bezug haben bzw. der Bezug nicht plausibel ist (Angabe als DNA).

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: Senf

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
AQ	6	02.01.00	negativ	<2	positiv	48,4	positiv	166,1		2	44,8	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
AQ	7	04.07.18	negativ	0	positiv	>40	positiv	>40	1	2	15	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
AQ	33	22/06/18	negativ	<2	positiv	42,9	positiv	150,6	0,2	2	40	Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
BC	29	26.06.18	negativ	<2	positiv	89,6	positiv	100,8	2	2	50	Senf	BioCheck ELISA Mustard-Check
BF	13	07.08.18	negativ	0	positiv	93,5	positiv	87,9	0,13	1		Senf	MonoTrace Mustard ELISA kit, BioFront Technologies
ES	8	10.08.18	negativ	< 1	positiv	15	positiv	21	1	3		Senfprotein	ELISA Systems Mustard ESMUS-48
IL	38		negativ	<1.2	positiv	100	positiv	125	1	2		Senf	Immunolab Mustard ELISA
RS-F	2	18.06.	negativ	< 0,5	positiv	72,8	positiv	108	0,1	1		Senf	Ridascreen® FAST Mustard, R6152, R-Biopharm
RS-F	5	20/06-10/08/2018	-	<0.5	-	56,9	-	99,2	0,5	1	30,94	Senf Samen	R Biopharm FAST Mustard R6152
RS-F	14	10/7-11/7/18	negativ	<0,1	positiv	83,5	positiv	111,8	0,1	1		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	17		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	20	11.07.18	negativ	<0,5	positiv	>13,5	positiv	>13,5		1		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	23	28.06.18	negativ	<0.5	positiv	83	positiv	79	0,5	1	40	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	28	25.06.18/26.06.18	-	< BG	-	110,05	-	110,15	0,1	0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	31	26.06.18	negativ		positiv	96	positiv	98,9	0,5	1	42	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
VT	9	08.08.18	negativ	<2.5	positiv	50,1	positiv	84		3		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	10	20.06.18	negativ	<2,5	positiv	94	positiv	117,5	1	3	50	Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	11	10.07.18	-	<2,5	-	109	-	126				Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	12	09.08.18	negativ	<2.5	positiv	82	positiv	102	2,5	3	30,2	Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	18	06.07.18	negativ	<LOD	positiv	81,8	-	not tested	1	3		Senfprotein	Veratox Mustard, Neogen
VT	27	06.07.18	negativ	<2,5	positiv	109,7	positiv	93,7		3		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	30	20.06.18	negativ	<2,5	positiv	66	positiv	100	1,5	3		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	36	19.06.18	negativ	ND	positiv	38	positiv	87	2,5	3	23	Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	40	11.7./21.08.	negativ	<2.5	positiv	75	positiv	95	2,5	3		Senf	Veratox Mustard, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	6			Ja	
AQ	7	gegen Senfprotein		Ja	Enzyme immunoassay (ELISA) für die quantitative Analyse von Senf in Lebensmitteln. Nachweisgrenze: 1 ppm, Bestimmungsgrenze: 2ppm Messbereich 2-60 ppm; Kreuzreaktivität mit: Traube (Samen) 15,5%, Kohl (Samen) 29,2%, Rettich (Samen) 31,2%, Koriander 0,012%, Kümmel 0,0012%, Meerrettich 0,0007%, Gartenkresse (Samen) 1,5%, Kardamon 0,006%, Cumin 0,0003%.
AQ	33			Ja	
BC	29	Polyclonal	0.5g Probe, PBS Puffer Extraktion bei 60°C		
BF	13	Monoclonale Antikörper	1:20 extractraction ratio, 1 hour at 60C	nein	
ES	8			ja	
IL	38				
RS-F	2		nach Herstelleranleitung	ja	
RS-F	5	unbekannt	1g + 20ml	ja	
RS-F	14	Senf	Nach Anleitung	nein	
RS-F	17	w eißer, gelber, brauner, schwarzer Senf	nach Testvorschrift	ja	
RS-F	20			nein	
RS-F	23	Die Antikörper detektieren spezifisch w eißen, gelben, braunen und schwarzen Senf.	nach Kitanleitung	nein	
RS-F	28	spezifischer Antikörper gegen alle Senf-Arten	nach Herstellerangaben	ja	
RS-F	31		gemäß Handbuch	ja	
VT	9				
VT	10		nach Herstellerangaben	ja	
VT	11		Extraktionslösung: PBS	nein	elisa Robonik
VT	12	nach Kit-Anleitung	nach Kit-Anleitung	nein	
VT	18		Extraktion:60°C vor-erhitzt TRIS 1X Extraktionspuffer / 15 min @ 60°C in Schüttelwasserbad / Zentrifugation Bestimmung: 4 parameter Kurve	ja	
VT	27		wie es ist	nein	
VT	30	Protein aus weißem, schwarzem und braunem Senf	lt Herstellerangaben	ja	
VT	36	Poly/Mono	TRIS EDTA Lösung / 15 mins / 60°C	ja	Einzelergebnis
VT	40				

5.1.2 ELISA: Sesam

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ	6	05.01.00	negativ	<2	positiv	24,5	positiv	25,1		2	54,7	Sesam	AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
AQ	7	04.07.18	negativ	0	positiv	>30	positiv	>30	0,2	2	15	Sesam	AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
BC	5	20/06-10/08/2018	-	<2.0	-	29,1	-	49,2	2	2	43,14	Sesam Samen	Biocheck (UK) Sesame Check R6029
BC	29	26.06.18	negativ	<2	positiv	21,8	positiv	28,5	2	2	50	Sesam	BioCheck ELISA Sesame-Check
BF	13	07.08.18	negativ	0	positiv	35,3	positiv	62,6	0,3	1		Sesam	MonoTrace Sesame ELISA kit, BioFront Technologies
EF	10	20.06.18	negativ	<2,0	positiv	22,5	positiv	22,5	0,5	2	50	Sesam	Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Sesame in Food (Cat. No. HU0030022) Eurofins Technologies
EF	30	18.06.18	negativ	<2	positiv	26	positiv	31	1,5	2		Sesam	Eurofins Technologies Test-Combination HU0030022.2
EF	33	22/06/18	negativ	<2	positiv	26	positiv	29	0,2	2	48	Sesam	Selection Sesame-Kits:
ES	8	10.08.18	negativ	< 0.125	positiv	7	positiv	7,7	0,125	1		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES	18	03.08.18	negativ	<LOD	positiv	0,82	-	nicht getestet	0,25	1		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
ES-n	9	08.08.18	negativ	<0,25	positiv	8,8	positiv	11,7		0		Sesamprotein	Elisa Systems ESSESE-48
ES-n	36	19.06.18	negativ	ND	positiv	7,2	-	NA	0,25	0	29	Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
IL	38		negativ	< 0.5	positiv	27	positiv	29	0.2	2		Sesam	Immucolab Sesame ELISA
NL	17		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	NutriLinia NC-6005-48 Romer Lab
NL-E	28	18.06.18/19.06.18	-	< BG	-	27,3	-	29,02	0,2	2		Sesam	nutriLinia Sesam -E, NC-6005/96, Romer Labs
RS-F	1	08.08.18	negativ	<2.5	positiv	89	positiv	94	0,2	2,5	13	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	3	09.08.18	negativ	< 2,5	positiv	89	positiv	94	2,5	5	15,6	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	12	15.08.18	negativ	<2.5	positiv	64,8	positiv	115,1	2,5	3	29,38	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	14	26/7-31/7/18	negativ	<0,14	positiv	77,95	positiv	109,9	0,14	3		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	20	18.06.18	negativ	<2,5	positiv	>20	positiv	>20		3		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	22		negativ		positiv	58	positiv	83,45	0,14	3		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	23	26.06.18	negativ	<2.5	positiv	120	positiv	120	2,5	3	40	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	27	04.07.18	negativ	<2.5	positiv	99,8	positiv	104,3		3		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	31	28.06.18	negativ		positiv	103,4	positiv	112,8	2,5	3	20	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	39	28.08.18	negativ		positiv	7,0	positiv	7,0		0	54	Sesamprotein	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
VT	11	06.07.18	-	<2,5	-	165	-	189				Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen
VT	16	24.07.18	negativ	<2.5	positiv	227,6	positiv	265,6		3		Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen
VT	40	11.7./31.8.	negativ	<2.5	positiv	170	positiv	190	2,5	3		Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Sesam:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	6			ja	
AQ	7	gegen Sesamprotein		ja	Enzyme immunoassay (ELISA) für die quantitative Analyse von Sesam in Lebensmitteln. Nachweisgrenze: 0,2 ppm, Bestimmungsgrenze: 2 ppm Messbereich 2-30 ppm; Kreuzreaktivität mit: Hafer 0,0003%, Chiasamen 0,36%, Bohnen 0,0003%, Cayenne 0,0006%, Zwiebel 0,0007%, Sonnenblumensamen 0,0003%, Schwarzes Sesam 30%.
BC	5	unbekannt	1g + 20ml	ja	
BC	29	Polyclonal	0.5g Probe, PBS Puffer Extraktion at 60°C		
BF	13	Monoclonale Antikörper	1:20 Extraktionsverhältnis, 1 Stunde bei 60°C	nein	
EF	10		Nach Kit-Anleitung	ja	Das verwendete Kit war nicht im Auswahlmenü
EF	30	Sesamproteine	lt Herstellerangaben	ja	
EF	33			ja	Kit - SensiSpec ELISA sesame kit HU0030022
ES	8			ja	
ES	18	2S-albumin	Extraktion: Raumtemperatur PBS Extraktionspuffer / 15 min @ 60°C im Schüttelwasserbad / Zentrifugation Bestimmung: 4 parameter Kurve	ja	
ES-n	9				
ES-n	36	Polyclonal/ Monoclonal	Extraktionslösung Konzentrieren / 15 min / 60°C	ja	Einzelergebnis
IL	38				
NL	17	Sesamsaat	nach Testvorschrift	ja	
NL-E	28	gegen Sesam-proteine gerichteter AK	nach Herstellerangaben	ja	
RS-F	1	Sesamprotein	Proben Extraktion in AEP-SMP Extraktionspuffer, 60°C, schütteln (150rpm), 10 Minuten (bei 60°C). Zentrifugation bei 2500g, 10 min.	ja	
RS-F	3	Sesamprotein	Durchführung nach Anleitung Kit Ridascreen FAST Sesame	ja	
RS-F	12	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
RS-F	14	Sesam	Nach Herstellerangaben	nein	
RS-F	20			nein	
RS-F	22				
RS-F	23	Die Antikörper detektieren spezifisch Proteine von weißem, schwarzem und gelbem Sesam.	Nach Kit-Anleitung	nein	
RS-F	27		Extraktionspuffer + Milchpulver / 10 / 60 °C	nein	
RS-F	31		gemäß Handbuch	ja	
RS-F	39		Puffer mit SMP / 10min / 60°C		Protein ist ausgedrückt als lösliches Sesamprotein (Protein x 7.3%)
VT	11		Extraktionslösung: PBS	nein	elisa Robonik
VT	16		Wie erwähnt in der Testkit-Anleitung	ja	
VT	40				

5.1.3 PCR: Sellerie

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg					
ASU	15		negativ		positiv	61,92	positiv	18,84	10	25	50	Sellerie	ASU §64 Methode/method
ASU	24		negativ		positiv	38,7	positiv	30	5	10	50	Selleriesamen, getr.	ASU §64 Methode/method
ASU	28	27.06.18	negativ		positiv		positiv					Sellerie	iQ™ Supermix, Biorad Primer/Sonde: Eurofins ASU L 08.00-56 August 2014
ASU	31	06.07.18	negativ		positiv		positiv					Sellerie-DNA	§64 LFGB L 08.00-56
ASU	34		negativ		positiv		positiv		10			Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	37		negativ		positiv		positiv						§64 LMBG L08.00-56
FP	4		negativ		positiv		positiv	6,47				Sellerie-DNA	foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
GI	7		negativ		positiv		negativ					Sellerie	GEN-IAL First Allergen, Coring System Diagnostix
MS	32		negativ		positiv	170	positiv	70	10	100	200	Sellerie-DNA	Microsynth
SFA	2	25.06.	negativ	< 1,0	positiv	8,75	positiv	7,88	0,4	1		Sellerie-DNA	SureFood® ALLERGEN Celery, S3605, R-Biopharm/Congen
SFA-4p	26	21.06.18	negativ		positiv		positiv		0,4	1	30	Sellerie-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	8	10.08.18	negativ	< 0,4	positiv	> 0,4	positiv	> 0,4	0,4			Sellerie	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	12	17.07.18	negativ	<1	positiv	119,14	positiv	62,23	1	1	32,15	Sellerie	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	22		negativ		positiv		-		0,4			Sellerie-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	23	25.06.18	negativ		positiv		positiv		0,4			Sellerie-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-Q	14	13/7-6/8/18	negativ	<0,4	positiv	1,6	positiv	1,68	0,4	1		Sellerie	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
div	5	20/06-10/08/2018	neg		pos		pos					Sellerie Samen DNA	Hausmethode
div	6	08.01.00	negativ		positiv		positiv		10			Sellerie-DNA	Hausmethode
div	17		-		positiv		-						Auswahl PCR-Methoden
div	19		negativ		positiv		positiv						andere
div	21		negativ		positiv	15	positiv	10	10	100		Sellerie-DNA, Sellerie-Knolle	AIAlA; Köppel et al. Two tetraplex real-time PCR for the detection and quantification of DNA from eight allergens in food; Eur. Food Res. Technol. 230 (2010)
div	25	25th July 2018	negativ		positiv		positiv		20				Hausmethode
div	30	16.06.18	negativ		positiv		positiv		20			Sellerie-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	35	19.06.18	negativ	./.	positiv	./.	positiv	./.	5	./.	./.		CEN/TS 15634-2
div	40	25.7./10.08.	negativ	<50	positiv	100	positiv	<100	50	100		Sellerie	Auswahl PCR-Methoden

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze
 * LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation
 * MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Sellerie:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	15		Extraktion mittels Sure Prep Advanced Fa. Congen; es wurde kein Clean-Up des Extraktes durchgeführt	ja	Screening mit § 64 L 08.00-65; Bestätigung mit Single-PCR (§64 L 08.00-56)
ASU	24	MDH Gen (101bp)	CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Selleriesaat
ASU	28	Protein der Mannitoldehydrogenase	Dneasy [®] mericon Food Kit/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen		
ASU	31		Extraktion mit Maxwell FFS Kit	ja	
ASU	34	Mannitol-Dehydrogenase	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR		
ASU	37	Teil des Mannitoldehydrogenase-Gens	2g-Probe, Silika-Säulchen, RealTime-PCR, 45 Cyclen	ja	
FP	4		real time PCR	nein	
GI	7			ja	Real-time PCR-basierte Methode für die Detektion von spezifischer DNA-Sequenzen von Sellerie. Detektionslimit <5 DNA Kopien.
MS	32		Wizard Promega	ja	Dotierung zu tief für uns
SFA	2		Extraktion nach Herstellerangaben mit SureFood [®] PREP Advanced, Protokoll 1	ja	
SFA-4p	26		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	ja	Artikelnr. S3401
SFA-ID	8				
SFA-ID	12	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
SFA-ID	22				
SFA-ID	23	nicht spezifiziert im Kit	Nach Kit-Anleitung	nein	
SFA-Q	14	Sellerie	Real time PCR	nein	
div	5	mtd	Tris & Säulen Extraktion, real-time PCR Analyse.	ja	
div	6		Gel Electrophoresis	ja	
div	17			ja	hauseigener real-time PCR Überprüfung Unterauftragslabor
div	19			ja	
div	21	Mannitol Dehydrogenase	CTAB-Wizard Extraktion Real-Time-PCR / Taqman Sonden; 45 CyclenCTAB-Wizard Extraktion Real-Time-PCR / Taqman Sonden; 45 Cyclen	ja	LOD/LOQ schwach anzuzeigen, da diese stark matrixabhängig sind. Ungefährer Richtwert.
div	25		DNA Extraktion mit Bioteccon foodproof Sample Preparation kit III		
div	30		CTAB, Proteinase K, Promega Wizard DNA CleanUp, Real-time PCR, 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L08.00-56
div	35	Mannitol dehydrogenase	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 cycles	nein	
div	40	Sellerie			Vergleich mit 400 ppm Reiskesstandard; probenspezifische LOD und LOQ-Angabe

5.1.4 PCR: Senf

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg					
ASU	3	09.08.18	negativ	s/b: <4,7; w: <31	positiv	w: > 400	positiv	w: > 400	s/b: 4,7; w: 31	s/b: 9,4; w: 154	s/b: 3,0; w: 3,0	Senf	ASU §64 Methode/method
ASU	15		negativ		positiv	66,6	positiv	47,16	5	10	50	Senf	ASU §64 Methode/method
ASU	24		negativ		positiv	114	positiv	106	5	10	50	andere: Senfsaat, weiß	ASU §64 Methode/method
ASU	28	03.07.18	negativ		positiv		positiv					Senf	5xQuantiFast® Pathogen PCR Fa.Qiagen Primer/Sonde: Eurofins § 64 LFGB L 08.00.59 Januar 2013
GI	7		negativ		positiv		positiv					Senf	GEN-IAL First Allergen, Coring System Diagnostix
MS	32		negativ		positiv	30	positiv	6	10	100	200	Senf-DNA	Microsynth
SFA	2	21.06.	negativ	< 1,0	positiv	17,8	positiv	19,6	0,4	1		Senf-DNA	SureFood® ALLERGEN Mustard, S3609, R-Biopharm/Congen
SFA-4p	26	21.06.18	negativ		positiv		positiv		0,4	1	30	Senf-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	8	10.08.18	negativ	< 0.4	positiv	> 0.4	positiv	> 0.4	0,4			Senf	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	12	17.07.18	negativ	<1	positiv	29,8	positiv	26,31	1	1	32,24	Senf	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	22		negativ		positiv		-		0,4			Senf-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	19		negativ		positiv		positiv						andere
div	21		negativ		positiv	120	positiv	70	20	100		Senf-DNA, gelber Senf	Fuchs et al, Development and Validation of a Real-Time PCR Method for the detection of White Mustard in Foods. J. Agric. Food Chem.58 (2010)
div	25	25th July 2018	negativ		positiv		positiv		30				andere: Hausmethode
div	30	16.06.18	negativ		positiv		positiv		40			Senf-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	34		negativ		positiv		positiv		0,4			Senf-DNA	Mustorp et al. 2008 Eur Food Res Technol. 226: 771-778
div	37		negativ		positiv		positiv						Hausmethode
div	35a	25.06.18	negativ	./.	positiv	./.	positiv	./.	5	./.	./.		Fuchs M., Cichna-Markl M., Hohegger, R – Development and validation of a real-time PCR method for the detection of white mustard (Sinapis alba) in foods. J. Agric. Food Chemis. 2010, 58, 11193-11200.
div	35b	25.06.18	negativ	./.	negativ	./.	positiv	./.	./.	./.	./.		Palle-Reisch et al. - Development and validation of a real-time PCR method for the simultaneous detection of black mustard (Brassica nigra) and brown mustard (Brassica juncea) - Food Chemistry 138 (2013) 348-355
div	40a	07.08.18	negativ	<10	negativ	<10	negativ	<10	10			Senf	Auswahl PCR-Methoden
div	40b	25.07.18	negativ	<100	positiv	<400	positiv	<400	100	400		Senf	Auswahl PCR-Methoden

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze
 * LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation
 * MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	3	siehe §64 L 08.00-65 und §64 L 08.00-59 Primer: MADS F/R/Probe und 11-F/R/Probe	DNA-Extraktion nach NucleoSpin Food 250 units (Macherey-Nagel), Proteinase K + RNAse, Quantstudio 5 Thermo Fisher Scientific, Konzentrationsbestimmung mittels Nano-Drop Thermo Fisher Scientific, Cyclen: 45	ja	Schwärzer/ brauner (s/b) und weißer (w) Senf sind getrennt angegeben. Probe A,B sowie die Dotierungsprobe waren für s/b negativ.
ASU	15		Extraktion mittels Sure Prep Advanced Fa. Congen; es wurde kein Clean-Up des Extraktes durchgeführt	ja	Screening und quantitative Bestimmung mit § 64 L 08.00-65; Bestätigung des qualitativen Ergebnisses mit Single-PCR (§64 L 08.00-64 (schwarz bzw. brauner Senf) und SureFood Allergen ID Fa. Congen (gelber Senf))
ASU	24	MADS D (74bp)	CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Senfsaat, weiß
ASU	28	MADS-D-Protein von Sinapis alba	Dneasy [®] mericon Food Kit/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen		
GI	7			ja	Real-time PCR-basierte Methode für die Detektion von spezifischer DNA Sequenzen von gelbem, braunem, und schwarzem Senf in Lebensmitteln. Das Detektionslimit <5 DNA Kopien.
MS	32		Wizard Promega	ja	Dotierung zu tief für uns
SFA	2		Extraktion nach Herstellerangaben mit SureFood [®] PREP Advanced, Protokoll 1	ja	
SFA-4p	26		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	ja	Artikelnr. S3401
SFA-ID	8				
SFA-ID	12	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
SFA-ID	22				
div	19			nein	
div	21	MADS D Gen	s. o.	ja	s. o.
div	25		DNA Extraktion mit Biotec foodproof Sample Preparation kit III		
div	30		CTAB, Proteinase K, Promega Wizard DNA CleanUp, Real-time PCR, 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L08.00-65:2017
div	34	Hauptallergen sin a1	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR		
div	37	Sinapis alba/ Brassica nigra/ B. juncea	2g-Probe, Silka-Säulchen, RealTime-PCR, 45 Cyclen	ja	
div	35a	MADS-D	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Zyklen	nein	Sinapis alba
div	35b	Partielles RT Gen für reverse transcriptase von gypsy-like retroelement 13G42-26	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 43 Zyklen	nein	
div	40a	Senf, braun			Vergleich mit 400 ppm Reiskeksstandard; probenspezifische LOD und LOQ-Angabe
div	40b	Senf, gelb			Vergleich mit 400 ppm Reiskeksstandard; probenspezifische LOD und LOQ-Angabe

5.1.5 PCR: Sesam

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
ASU	24		negativ		positiv	56,6	positiv	41,9	5	10	50	Sesam	ASU §64 Methode/method
ASU	31	06.07.18	negativ		positiv		positiv					Sesam-DNA	ASU L 18.00-22
GI	7		negativ		positiv		negativ					Sesam	GEN-IAL First Allergen, Coring System Diagnostix
MS	32		negativ		positiv	2	positiv	1	10	100	200	Sesam-DNA	Microsynth
SFA	2	22.06.	negativ	< 1,0	positiv	7,18	positiv	5,5	0,4	1		Sesam-DNA	SureFood® ALLERGEN Sesame, S3608, R-Biopharm/Congen
SFA-ID	8	10.08.18	negativ	< 0.4	positiv	> 0.4	positiv	> 0.4	0,4			Sesam	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	15		negativ		positiv	> 10	positiv	> 10	10			Sesam	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	22		negativ		positiv		-		0,4			Sesam-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	26	21.06.18	negativ		positiv		positiv		0,4	1	30	Sesam-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	34		negativ		positiv		positiv		0,4			Sesam-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	19		negativ		negativ		positiv						andere
div	21		negativ		positiv	30	positiv	30	10	100		Sesam-DNA, Sesamsaat	AI/AIB; Köppel et al, siehe Sellerie
div	25	25th July 2018	negativ		positiv		positiv		25				Hausmethode
div	28	03.07.18	negativ		positiv		positiv					Sesam	5xQuantiFast® Pathogen PCR Fa.Qiagen, Primer/Sonde: Eurofins, Methode nach Mustorp et al. 2007
div	30	16.06.18	negativ		positiv		positiv		20			Sesam-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	30	16.06.18	negativ		positiv		positiv		0,4			Senf-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	35	25.06.18	negativ	./.	positiv	./.	positiv	./.	5	./.	./.		Waiblinger H-U - Ring trial validation of single and multiplex real-time PCR methods for the detection and quantification of the allergenic food ingredients sesame, almond, lupine and Brazil nur - J. Verbr. Lebensm. - DOI 10.1007/s00003-014-0868-x
div	37		negativ		positiv		positiv						Hausmethode
div	40	25.7./10.08.	negativ	<100	positiv	100	positiv	100	100	100		Sesam	Auswahl PCR-Methoden

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze
 * LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation
 * MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Sesam:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	24	2 S Albumin Gen (66bp)	CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Sesam, entfettet
ASU	31		Extraktion mit Maxwell FFS Kit	ja	
GI	7			ja	Real-time PCR-basierte Methode für Detektion von spezifischen DNA-Sequenzen von Sesam. Das Detektionslimit <5 DNA Kopien.
MS	32		Wizard Promega	ja	Dotierung zu tief für uns
SFA	2		Extraktion nach Herstellerangaben mit SureFood® PREP Advanced, Protokoll 1	ja	
SFA-ID	8				
SFA-ID	15		Extraktion mittels Sure Prep Advanced Fa. Congen; es wurde kein Clean-Up des Extraktes durchgeführt	ja	Untersuchung wurde nur mit SureFood Allergen ID, Fa. Congen durchgeführt
SFA-ID	22				
SFA-ID	26		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	ja	Artikelnr. S3608
SFA-ID	34	Sesam	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR		
div	19			ja	
div	21	15.5 kDa oleosin mRNA	s. o.	ja	s.o
div	25		DNA Extraktion mit Bioteccon foodproof Sample Preparation kit III		
div	28	2 S Albumin	Dneasy [®] mericon Food Kit/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen		
div	30		CTAB, Proteinase K, Promega Wizard DNA CleanUp, Real-time PCR, 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L18.00-19
div	30		CTAB, Proteinase K, Promega Wizard DNA CleanUp, Real-time PCR, 45 Zyklen	ja	Senf und Brassica-Arten-DNA, interne Methode
div	35	Albumine 2S	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Zyklen	nein	
div	37	Sesamum indicum, S. radiacum	2g-Probe, Silika-Säulchen, RealTime-PCR, 45 Zyklen	ja	
div	40	Sesam			Vergleich mit 400 ppm Reiskeksstandard; probenspezifische LOD und LOQ-Angabe

5.2 Homogenität**5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung****Microtracer Homogenitätstest****DLA 04-2018 Dotierungsniveauprobe**

Gewicht Gesamtprobe	1,04	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	42,0	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,01	107	42,7
2	5,03	131	52,1
3	4,98	131	52,6
4	5,03	138	54,9
5	4,99	140	56,1
6	4,97	137	55,1
7	5,05	124	49,1
8	5,10	122	47,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	128,8	Partikel
Standardabweichung	11,4	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	7,01	
Wahrscheinlichkeit	43	%
Wiederfindungsrate	122	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	51,3	mg/kg
Standardabweichung	4,53	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,82	%
Horwitz Standardabweichung	8,85	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	122	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 04-2018
EP-Name	Allergene IV: Sellerie, Senf und Sesam in Kartoffelchips
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Kartoffelchips, light (22% Fett) / Zutaten: Kartoffeln, Sonnenblumenöl, Salz sowie weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel Selleriesamen, Senf und Sesam (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel Selleriesamen, Senf und Sesam
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A + B: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C) Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Sellerie, Senf, Sesam Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. 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 10. August 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-Scharf

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		GROSSBRITANNIEN
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		USA
		SCHWEIZ
		Deutschland
		CANADA
		CANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SPANIEN
		Deutschland
		ZYPERN
		Deutschland
		ITALIEN
		SCHWEDEN
		GROSSBRITANNIEN
		FINLAND
		POLEN
		CANADA
		ÖSTERREICH
		Deutschland
		POLEN
		SCHWEIZ
		FRANKREICH
		CANADA
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		FRANKREICH
		GROSSBRITANNIEN
		GROSSBRITANNIEN
		KROATIEN
		CANADA
		SPANIEN
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		CANADA

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

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

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
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 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of sesame (Sesamum indicum) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 33. 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]
 34. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and

- determination of mustard (*Sinapis alba*) and soya (*Glycine max*) in boiled sausages by real-time PCR]
- 35.ASU §64 LFGB L 08.00-64 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von von schwarzem Senf (*Brassica nigra* L.) und braunem Senf (*Brassica juncea* L.) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of black mustard (*Brassica nigra* L.) and brown mustard (*Brassica juncea* L.) in boiled sausages by real-time PCR]
- 36.ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (*Brassica nigra* L.), braunem Senf (*Brassica juncea* L.), weißem Senf (*Sinapis alba*), Sellerie (*Apium graveolens*) und Soja (*Glycine max*) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (*Brassica nigra* L.), brown mustard (*Brassica juncea* L.), white mustard (*Sinapis alba*), celery (*Apium graveolens*) and soya (*Glycine max*) in boiled sausages by real-time PCR]

DLA 04/2018 - Allergene IV

Alle 40 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte für ELISA-Methoden hinsichtlich der Parameter Sesam und Senf qualitativ und quantitativ und für Sellerie lagen keine Ergebnisse vor. Die PCR-Methoden wurden für alle 3 Parameter ebenfalls qualitativ bewertet. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsmaterialprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

22 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Finnland, Frankreich, Großbritannien, Italien, Kroatien, Österreich, Polen, Spanien, Schweden, Schweiz, Zypern), ein Teilnehmer in den USA und 6 Teilnehmer in Kanada.