

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 17/2018

ALM Verification:

Milch in Getreidebrei-Matrix

5 Proben mit Milchpulver

(Gehalte: 0,25 / 1,25 / 2,5 / 12,5 / 25 mg/kg)

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

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

Koordinator der LVU:
Dr. Matthias Besler-Scharf

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler-Scharf Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 17/2018
<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 (17. August 2018) Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Dr. Gerhard Wichmann (QM-Beauftragter / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed G. Wichmann</i> Datum / Date: 17. August 2018
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben. In case the analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	5
2.1 Untersuchungsmaterial.....	5
2.1.1 Charakterisierung der PT-Probenreihe.....	7
2.1.2 Homogenität.....	8
2.1.2 Stabilität.....	8
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Action Level Matrix Score (ALM-Score).....	11
3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score).....	11
3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision	12
3.2.2 Werte aus Erkenntnissen	14
4. Ergebnisse.....	15
4.1 Vergleichsuntersuchung Milch.....	16
4.1.1 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (ELISA- und LC/MS-Methoden).....	16
4.1.2 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (ELISA-Methoden) . . .	17
4.1.2.1 ELISA-Ergebnisse: Casein/Milchprotein (als Magermilchpulver).....	17
4.1.2.2 ELISA-Ergebnisse: β -Lactoglobulin (als β -Lactoglo- bulin).....	18
4.1.3 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (LC/MS Methoden) . . .	19
4.1.4 Informative Angaben: Statistische Kenndaten (ELISA- Methoden).....	21
4.1.4.1 Casein/Milchprotein (als Magermilchpulver).....	21
5. Dokumentation.....	24
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	24
5.1.1 ELISA-Methoden (Casein/Milchprotein).....	24
5.1.2 ELISA-Methoden (β -Lactoglobulin).....	26
5.1.3 LC-MS-Methoden.....	27
5.2 Homogenität.....	28
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	28
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	31
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	32
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	33

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (PT) ist ein unverzichtbares Element für das Qualitäts-Management-System eines jeden, mit der Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen befassten Labors. Die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen ermöglicht den teilnehmenden Laboren die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten für die erforderliche Verifizierung oder Validierung der durchgeführten Untersuchungsmethode [1, 5].

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

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

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

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

Zusätzlich wurde zur Information eine quantitative Bewertung der Ergebnisse für den Action Level sowie den Level 5 mittels z-Score vorgenommen.

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei der Lebensmittelmatrix des Untersuchungsmaterials handelt es sich um eine Mischung handelsüblicher Kindernahrungsmittel "Getreide-Brei" ab dem 4. und 6. Monat (gekennzeichnet als milchfrei und glutenfrei). Die Grundzusammensetzung war für alle 6 Proben gleich (s. Tabelle 1).

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

Anschließend wurde die Reihe der **dotierten Proben** folgendermaßen hergestellt: Das Dotierungsmaterial, die die allergene Zutat Magermilchpulver enthielt, wurde mittels Zentrifugalmühle gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert.

Anschließend wurde in separaten Ansätzen für jeden der 5 Level portionsweise erneut Grundmatrix in 2-3 weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

Zur Dotierung wurde eine Mischung von handelsüblichen Magermilchpulvern aus insgesamt 9 Einzelprodukten aus 5 Ländern (Europa, USA) verwendet. Die Mischung der Magermilchpulver hat in den Dotierungsniveauproben der Eignungsprüfung DLA 03/2018 für Casein mit diversen ELISA-Methoden eine mittlere Wiederfindungsrate von $107 \% \pm 43 \%$ (n=9) ergeben.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

PT-Probenreihe	Level 0 „Null“	Level 1 0,25 mg/kg	Level 2 1,25 mg/kg	Level 3 2,5 mg/kg	Level 4 12,5mg/kg	Level 5 25 mg/kg
Zutaten	g/100 g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g
Bio-Getreidebrei-Mischung Zutaten: Hirsevollkornmehl (68%), Naturreismehl (25%), Maisvollkornmehl (5,4%) und Buchweizenmehl (1,6%), Thiamin Nährwertangaben pro 100 g: Fett 3,6 g, Kohlenhydrate 77 g, Eiweiß 11 g	100	100	100	100	100	100
<i>weitere Zutaten:</i> <i>Maltodextrin und Siliciumdioxid</i>	-	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Allergen-Gehalte	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
<i>davon Milch:</i>	-					
- als Magermilchpulver*		0,261	1,24	2,56	12,3	25,5
- mit 33,0% Gesamtprotein**		0,086	0,41	0,84	4,07	8,42
- mit 26,4% Casein***		0,069	0,33	0,67	3,26	6,74
- mit 3,3% β -Lactoglobulin***		0,009	0,04	0,08	0,41	0,84
<i>erweiterte kombinierte Unsicherheit (k=2) des Magermilchpulver-Gehalts (= \pm 9,0 %)</i>		\pm 0,023	\pm 0,11	\pm 0,23	\pm 1,1	\pm 2,3

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

** Proteingehalt gemäß Laboranalyse des Rohstoffs: 33,0 \pm 0,36 %, n=5 (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,38 für Milchprotein)

*** Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10% β -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [42])

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

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

Alle Unsicherheitsbeiträge wurden in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und als Varianzen addiert. Die Wurzel aus der Summe der Gesamtvarianzen ergibt die kombinierte Unsicherheit "Uc", die mit dem Erweiterungsfaktor k=2 multipliziert die erweiterte Unsicherheit der zugewiesenen Werte " $U(X_{pt})$ " ergibt [3, 13, 18 - 20].

2.1.1 Charakterisierung der PT-Probenreihe

Die PT-Probenreihe wurde mittels ELISA-Bestimmung charakterisiert (Immunolab Casein ELISA, n=3). Die dotierten Level wurden mit guter Korrelation zwischen Dotierung (Spiking) und Mittelwert der Ergebnisse (Mean) erfasst (s. Abb. 1). Die relativen Standardabweichungen (RSD) lagen im Bereich von ca. 63% bis 3,3% und die Wiederfindungsraten (Recovery) bei 79% bis 135% bzw. für Level 2 bei 177%.

Tabelle 2: Charakterisierung der PT-Probenreihe Milch in Getreidebrei mittels ELISA-Bestimmung (Immunolab Casein, Angabe als Magermilchpulver, n=3)

PT-Sample	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Spiking	0,0	0,26	1,24	2,56	12,3	25,5
Result 1	0,0	0,14	2,54	2,98	16,1	25,6
Result 2	0,0	0,36	1,57	3,15	12,9	26,8
Result 3	0,0	0,13	2,46	4,19	13,3	27,3
Mean [mg/kg]	0,0	0,207	2,19	3,44	14,7	26,6
SD	-	0,13	0,54	0,66	1,98	0,89
RSD [%]	-	62,6	24,6	19,0	13,5	3,3
Recovery [%]	-	79	177	135	119	104

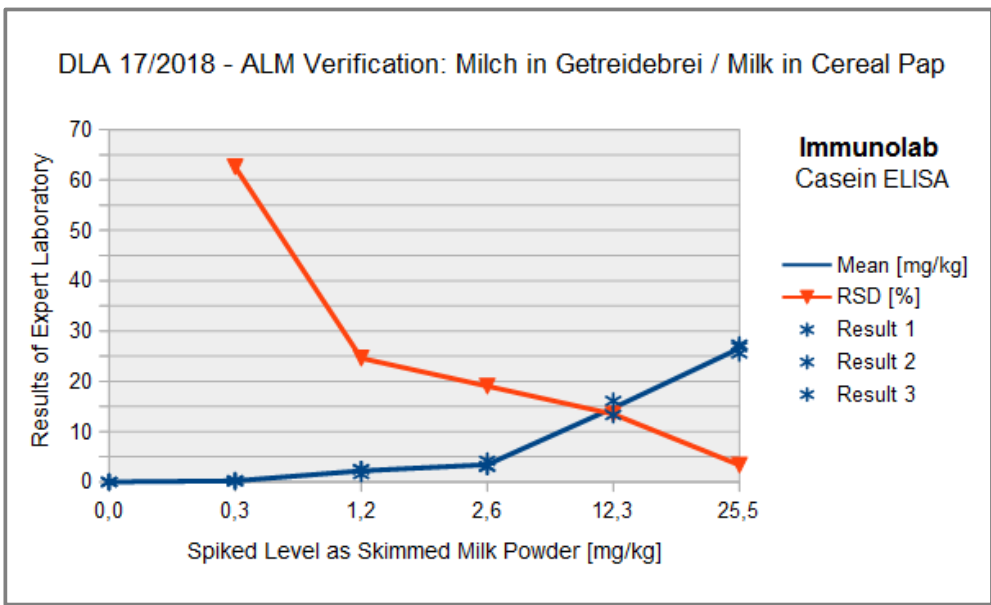


Abb./Fig. 1: Darstellung der ELISA-Ergebnisse der PT-Probenreihe Milch in Getreidebrei (Immunolab Casein, n=3), Anmerkung: die x-Achse ist zur besseren Erkennbarkeit der niedrigen Gehalte nicht linear dargestellt.

2.1.2 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben Level 1 bis 5 hat eine Wahrscheinlichkeit von 100%, 97%, 90%, 87% bzw. 83% 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 wurden HorRat-Werte von 0,41, 0,57, 0,81, 0,88 bzw. 0,88 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

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 Degraderationsrate 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. 0,34 (23,2°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 13. Kalenderwoche 2018 je eine Portion der Proben 1 bis 6 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 11. Mai 2018.

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

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

- *Die 6 Proben sind in zufälliger Reihenfolge nummeriert.*
- *Es soll qualitativ mit einer geeigneten Methode nachgewiesen werden, dass der sogenannte „Action Level“ von 2,5 mg/kg Magermilchpulver erfasst werden kann (= Action Level 1 (VITAL Konzept 2.0) bzw. Beurteilungswert des ALTS/ALS).*
- *Soweit möglich ist die Angabe quantitativer Ergebnisse erwünscht, um einen Vergleich zu den Zusatzniveaus darstellen zu können.*

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung. (siehe Dokumentation unter Punkt 5.3 EP-Informationen)

2.3 Ergebnisübermittlung

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

Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene Gehalte an allergenen Zutaten in mg/100g 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.

Von 11 Teilnehmern haben 9 Teilnehmer ihre Ergebnisse fristgerecht abgegeben. 2 Teilnehmer haben keine 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 [31-34]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

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

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

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

Tabelle 3: Schwellenwerte, Beurteilungswerte und gesetzliche Höchstwerte (farbig unterlegt: Action Level in der vorliegenden LVU) [21-23, 32]

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

* berechnet aus Schwellenwert bei Verzehr von 100 g Lebensmittel [22, 23]

** Höchstwert zur Kennzeichnung als „glutenfrei“ gemäß EU-VO 828/2014 [21]

3.1 Action Level Matrix Score (ALM-Score)

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

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

Tabelle 4: Bewertung der Ergebnisse anhand von ALM-Scores

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

3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)

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

Die Wiederfindungsraten werden in Bezug auf das zugesetzte Allergen (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten der Level 1 bis 5. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [29]. Für quantitative PCR-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

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

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

3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision

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

Tabelle 5a: ELISA-Methoden - Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [36-37]

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

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [30]. 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 [30].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [33]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

Tabelle 5b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [38-41]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD_r	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Soja	Weizenmehl	107	107 %	63 %	-	31 %	-	rt-PCR ASU 16.01-9
	Maismehl	145	145 %	34 %	-	24 %	-	
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	114,1 64,4	114 % 161 %	-	14,7% 27,7%	22,2% 41,4%	19,6% 36,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sojamehl	Wurst, autoklaviert	33,1	33,1 %	-	21,5%	30,8	26,8%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	82,0	82 %	-	17,3%	24,1%	20,8%	rt-PCR ASU 08.00-59
		39,6	99 %		22,9%	31,8%	27,4%	
		19,6	98 %		22,9%	24,0%	17,7%	
		9,3	93 %		31,1%	30,2%	-	
Weizen + Roggen	Brühwurst (100°C, 60 min)	96,1	120 %	-	21,3%	35,4%	32,0%	rt-PCR ASU 08.00-66
Weizen + Roggen	Wurst, autoklaviert	74,9	11,0 %	-	24,6%	32,7%	27,7%	rt-PCR ASU 08.00-66

3.2.2 Werte aus Erkenntnissen

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [28], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [25-27], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [29] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [24] erarbeitet worden.

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

Tabelle 6: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [24-29]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2% ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 7: PCR-Validierungskriterien

Literatur [24]	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% und für die Wiederfindungsrate entsprechend 50-150% fest.

4. Ergebnisse

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

Die **qualitative Auswertung** erfolgte **gemeinsam** für ELISA- und LC/MS-Methoden. Die **quantitative Auswertung** wurde getrennt nach ELISA-Methoden und LC/MS-Methoden durchgeführt. PCR-Ergebnisse wurden nicht eingereicht. Die Ergebnisse wurden in den entsprechenden Kapiteln nach durchgeführten Methoden (z.B. Testkits) zusammengefasst und die Auswertenummern innerhalb der Gruppen aufsteigend sortiert.

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.

ELISA-Ergebnisse, die als Milchprotein (gesamt) angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt von 33,0% in Magermilchpulver umgerechnet worden (s. S.5). Ergebnisse, die als Casein angegeben wurden, sind mit Literaturangaben [42] von 80% Casein in Gesamtmilchprotein ebenfalls in Magermilchpulver umgerechnet worden.

Ein ELISA-Ergebnis-Satz, der als β -Lactoglobulin angegebenen wurde, sowie ein weiterer LC/MS-Ergebnis-Satz wurden separat ausgewertet.

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

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

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Milch

4.1.1 Qualitativ: Action Level Matrix-Scores (ELISA- und LC/MS-Methoden)

Auswertenummer	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3 (Action Level)	Level 4	Level 5	ALM-Score qualitativ	Methode	Hinweis
	„Null“	0,25 mg/kg	1,25 mg/kg	2,5 mg/kg	12,5 mg/kg	25 mg/kg			
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Level 1 - 5		
2a	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	AQ-C	
7	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	AQ-M	
8	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	5 (100%)	IL	
6a	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	MI-C	
6b	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	MI-L	
1a	negativ	-	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	RS-FC	
5	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	RS-FC	
1b	negativ	-	-	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	RS-FM	
2b	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	2 (40%)	VT	
3	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	2 (40%)	VT	
4	negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	2 (40%)	VT	
9	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	3 (60%)	VT	
3	negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	4 (80%)	LC-MS	

Anmerkung:

Die Level 4 und 5 wurden zu 100% von den Teilnehmern positiv nachgewiesen.

Der Action Level (Level 3) wurde von 77% (10) der Teilnehmer erfasst. Dabei wurden drei negative Ergebnisse für den Action Level mittels Methode VT angegeben (Bestimmungsgrenze laut Testkit-Anleitung ist 2,5 mg/kg Magermilchpulver). Die niedrigeren Level 1 und 2 wurden jeweils von weniger als 50% der Teilnehmer-Ergebnisse positiv nachgewiesen.

	Level 0	Level 1	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Anzahl positiv	0	2	5	10	13	13
Anzahl negativ	13	9	7	3	0	0
Prozent positiv	0	18	42	77	100	100
Prozent negativ	100	82	58	23	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	keiner	positiv	positiv	positiv
Dotierung	negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv

Methoden:

- AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs
- AQ-M = AgraQuant Milchprotein, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI-C = Morinaga Institute ELISA Casein
- MI-L = Morinaga Institute ELISA Lactoglobulin
- RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm
- RS-FM= Ridascreen® Fast Milchprotein, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen
- LC-MS = Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie

4.1.2 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (ELISA-Methoden)

4.1.2.1 ELISA-Ergebnisse: Casein/Milchprotein (als Magermilchpulver)

Auswertenummer	Level 1 – 0,25 mg/kg		Level 2 – 1,25 mg/kg		Level 3 – 2,5 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		
2a												AQ-C	
7	<LOQ		3,94	319	5,45	213	27,0	219	40,3	158	0/4 (0%)	AQ-M	Ergebnis umgerechnet °
8	0,290	111	2,19	177	3,45	135	14,7	119	26,6	104	4/5 (80%)	IL	
6a	<0,950		<0,950		2,88	113	11,4	92	28,8	113	3/3 (100%)	MI-C	Ergebnis umgerechnet °
1a	0,655	251	8,75	708	3,46	135	12,0	97	33,7	132	3/5 (60%)	RS-FC	Ergebnis umgerechnet °
5	<1,89		<1,89		3,33	130	11,4	92	27,3	107	3/3 (100%)	RS-FC	Ergebnis umgerechnet °
1b	0,500	192	1,89	153	4,91	192	18,7	151	66,1	259	0/5 (0%)	RS-FM	Ergebnis umgerechnet °
2b												VT	
3	< 2,50		<2,50		<2,50		4,20	34	17,2	67	1/2 (50%)	VT	
4	<7,58		<7,58		<7,58		37,0	300	68,8	269	0/2 (0%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
9	<2,00		<2,00		<2,50		7,00	57	15,0	59	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 16

	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1		Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	4	Anzahl im AB	5	Anzahl im AB	6
Prozent im AB	33		Prozent im AB	0	Prozent im AB	67	Prozent im AB	56	Prozent im AB	67

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

- AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs
- AQ-M = AgraQuant Milk Protein, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI-C = Morinaga Institute ELISA Casein
- RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm
- RS-FM= Ridascreen® Fast Milk Protein, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Level 3 bis 5 lagen 56% bis 67% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse im Bereich der AOAC-Anforderungen von 50-150%. Die Wiederfindungsraten für die Level 1 und 2 lagen mit einer Ausnahme oberhalb von 150%.

4.1.2.2 ELISA-Ergebnisse: β -Lactoglobulin (als β -Lactoglobulin)

Auswertenummer	Level 1 – 0,25 mg/kg		Level 2 – 1,25 mg/kg		Level 3 – 2,5 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		
6b	<0,031		<0,031		0,0500	59	0,230	56	0,540	64	3/3 (100%)	MI-L	
											° Umrechnung S. 16		
AB**		50-150 %	AB**		50-150 %	AB**		50-150 %	AB**		50-150 %	Methoden:	
Anzahl im AB		0	Anzahl im AB		0	Anzahl im AB		1	Anzahl im AB		1	MI-L = Morinaga Institute ELISA Lactoglobulin	
Prozent im AB		0	Prozent im AB		0	Prozent im AB		100	Prozent im AB		100		

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Beta-Lactoglobulin, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für die vom Teilnehmer quantifizierte Level 3 bis 5 lagen die Wiederfindungsraten im Bereich der AOAC-Anforderungen von 50-150%. Die Ergebnisse für Level 1 und 2 lagen unter der angegebenen Bestimmungsgrenze der Methode.

4.1.3 Quantitativ: Wiederfindungs-Scores (LC/MS Methoden)

Auswertenummer	Level 1 – 0,25 mg/kg		Level 2 – 1,25 mg/kg		Level 3 – 2,5 mg/kg (Action Level)		Level 4 - 12,5 mg/kg		Level 5 - 25 mg/kg		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		
3	< 10		< 10		< 10		14,3	116	30,7	120	2/2 (100%)	LS-MS/MS	
	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %			
	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	1			
	Prozent im AB	0	Prozent im AB	0	Prozent im AB	0	Prozent im AB	100	Prozent im AB	100			

° Umrechnung S. 16

Methoden:

LC-MS = Flüssigchromatographie/Massenspektrometrie

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für die vom Teilnehmer quantifizierte Level 4 und 5 lagen die Wiederfindungsraten im Bereich der AOAC-Anforderungen von 50-150%. Die Ergebnisse für Level 1 bis 3 lagen unter der angegebenen Bestimmungsgrenze der Methode.

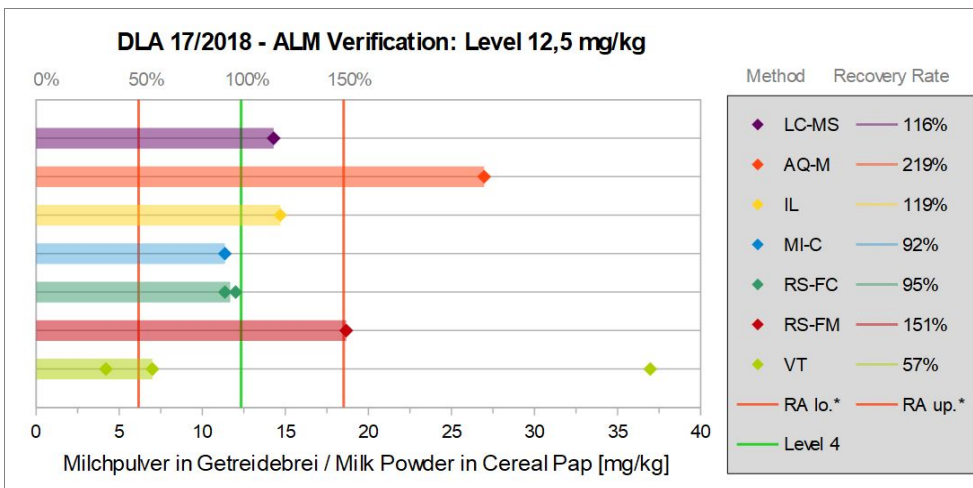
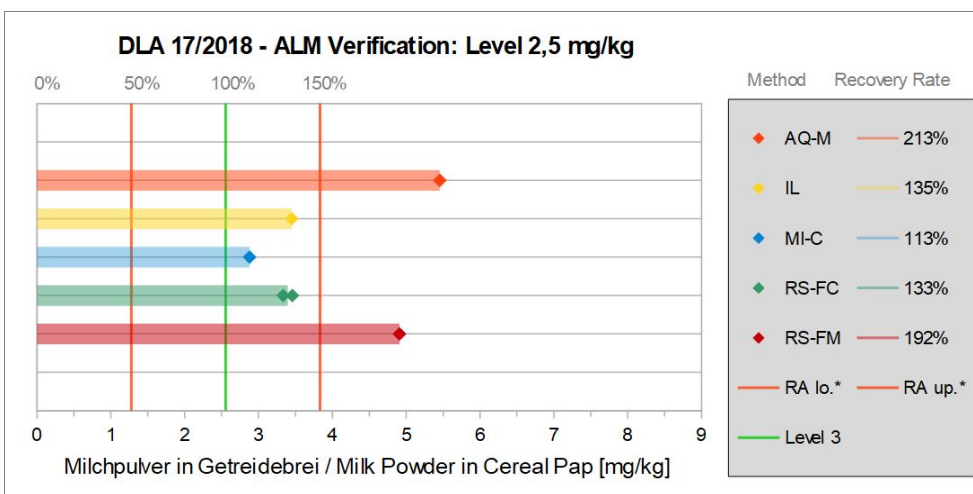
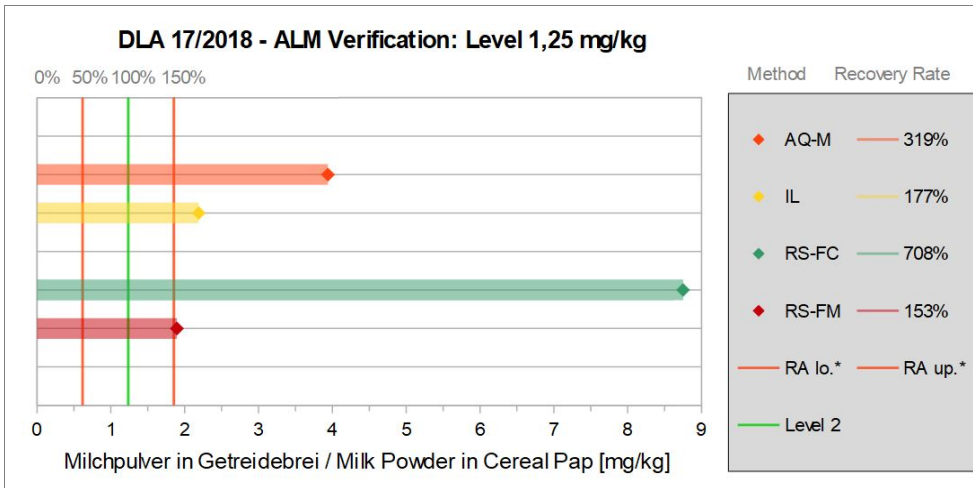


Abb./Fig. 2: Darstellung der Einzelergebnisse (Level 2-4 getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Magermilchpulvergehalt in mg/kg, obere Skala % Wiederfindungsrate in % mit * Akzeptanzbereich von 50% - 150% (* range of acceptance: RA lower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

4.1.4 Informative Angaben: Statistische Kenndaten (ELISA-Methoden)

4.1.4.1 Casein/Milchprotein (als Magermilchpulver)

Probe: Action Level 2,5 mg/kg

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}
Anzahl der Messergebnisse	6
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	3,91
Robuster Mittelwert	3,91
Median (X_{pt})	3,45
Robuste Standardabweichung (S^*)	1,16
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	0,864
Untere Grenze des Zielbereichs	1,73
Obere Grenze des Zielbereichs	5,18
Quotient S^*/σ_{pt}	1,3
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,6
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	83

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Als zugewiesener Wert wurde der Median aller Ergebnisse verwendet. Für die Ermittlung der z-Scores wurde eine Zielstandardabweichung von 25% zugrunde gelegt (s. Abb. 3, S.23).

Alle Angaben haben rein informativen Charakter.

Probe: Level 25 mg/kg

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	8
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	31,9
Median	28,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	29,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	12,8
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	7,43
Untere Grenze des Zielbereichs	14,9
Obere Grenze des Zielbereichs	44,6
Quotient S^*/σ_{pt}	1,7
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,6
Ergebnisse im Zielbereich	7
Prozent im Zielbereich	88

**ohne Ergebnis Nr. 4 (Analytangabe fraglich)*

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Als zugewiesener Wert wurde der robuste Mittelwert (Algorithmus A) aller Ergebnisse verwendet. Für die Ermittlung der z-Scores wurde eine Zielstandardabweichung von 25% zugrunde gelegt (s. Abb. 4, S.23).

Alle Angaben haben rein informativen Charakter.

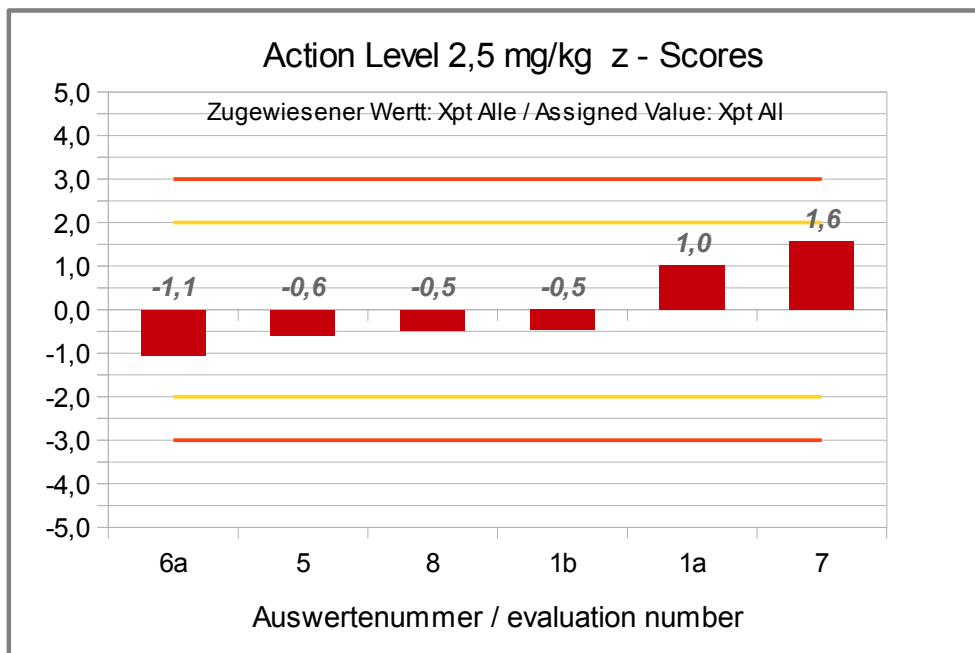


Abb./Fig. 3:

z-Scores Action Level 2,5 mg/kg (ELISA-Ergebnisse als Magermilchpulver)
 Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse

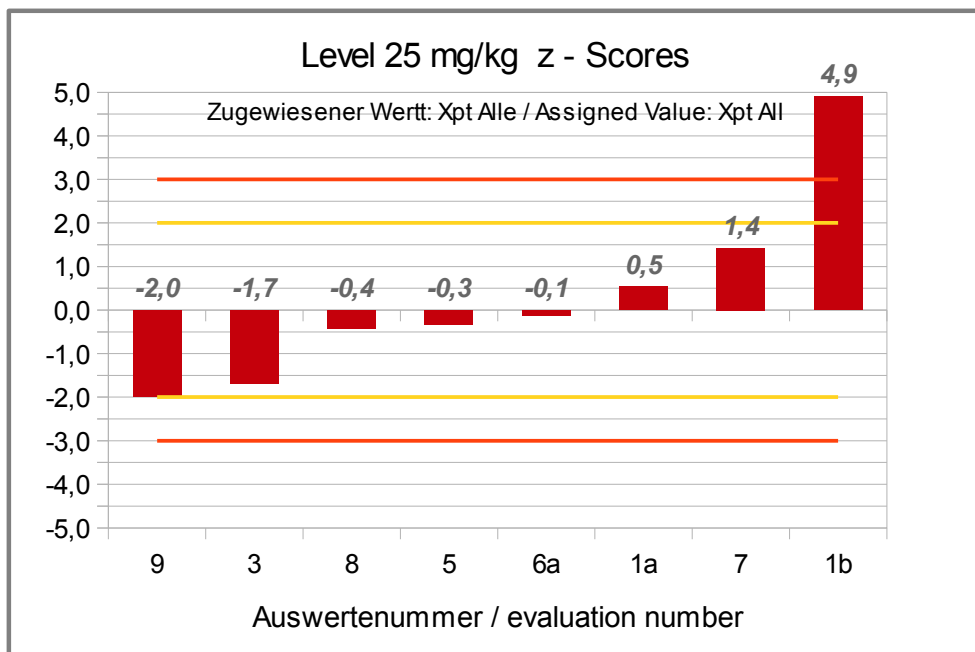


Abb./Fig. 4:

z-Scores Level 25 mg/kg (ELISA-Ergebnisse als Magermilchpulver)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert (Alg.A) aller Ergebnisse

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA-Methoden (Casein/Milchprotein)

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1 Level 2,5 mg/kg		Ergebnis Probe 2 Level 25 mg/kg		Ergebnis Probe 3 Level 0,25 mg/kg		Ergebnis Probe 4 Nullprobe		Ergebnis Probe 5 Level 12,5 mg/kg		Ergebnis Probe 6 Level 1,25 mg/kg		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg		
AQ-C	2a	11.05.18	positiv		positiv		negativ		negativ		positiv		positiv		0,2			Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ-M	7	04.04.18	positiv	1,8	positiv	13,3	positiv	<LOQ	negativ	<LOD	positiv	8,9	positiv	1,3	0,05	0,4	0,25	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Mik COKAL2448, RomerLabs
IL	8		positiv	3,45	positiv	26,6	positiv	0,29	negativ	0	positiv	14,7	positiv	2,19	0,16*	0,8*		Magermilchpulver	Immunolab Casein ELISA
MI-C	6a	06.04.	positiv	0,76	positiv	7,6	negativ	<0,25	negativ	<0,25	positiv	3	negativ	<0,25	0,25	0,25		Casein	Morinaga Casein ELISA Kit II
RS-FC	5	25.04.18	positiv	0,88	positiv	7,2	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	3	negativ	<0,5	0,5	0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FC	1a	11.05.	positiv	0,913	positiv	8,89	fraglich	0,173	negativ	<0,125	positiv	3,17	positiv	2,31	0,71	2,5		Casein	RIDASCREEN FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FM	1b	27.04.	positiv	1,62	positiv	21,8	fraglich	0,165	negativ	<0,125	positiv	6,16	fraglich	0,625	0,7	2,5		Milchprotein	RIDASCREEN FAST Mik, R4652, R-Biopharm
VT	3	03.05.18	negativ	<2,5	positiv	17,2	negativ	<2,5	negativ	<2,5	positiv	4,2	negativ	<2,5	1	2,5	0,4	Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	4	25.04.18	negativ	<2,5	positiv	22,7	negativ	<2,5	negativ	<2,5	positiv	12,2	negativ	<2,5	2,5	2,5	0,296	Milchprotein, gesamt	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	9	11.5.	positiv	<2,5	positiv	15	negativ	<2	negativ	<2	positiv	7	negativ	<2	2	2,5		Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	2b	09.04.18	negativ		positiv		negativ		negativ		positiv		negativ		2,5			Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer:

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-C	2a			ja	Sample 3 fraglich (1x positiv, 1x negativ)
AQ-M	7	Milchproteine, gesamt	wässriger Puffer/15 min/60 Grad Celsius	ja	
IL	8				Es wurde der gemittelte Umrechnungsfaktor von MoniQA MQA 092014 (3,6) und NIST1549 (4,4) Magermilchpulver verwendet: Umrechnungsfaktor = 4, * LOD und LOQ-Werte bezogen auf Magermilchpulver
MI-C	6a	Casein	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-FC	5		nach Testkitanleitung	ja	
RS-FC	1a		nach Herstelleranleitung; Standard 2 verdünnt, um Werte < 2,5 erfassen zu können; Aufarbeitung mit Extractor 2	ja	
RS-FM	1b		nach Herstelleranleitung; Standard 2 verdünnt, um Werte < 2,5 erfassen zu können	ja	
VT	3	Casein, beta-Lactoglobulin		ja	Probe 1) schwach positiv Probe 3) OD Probe 3 > OD 0ppm Probe 4) OD Probe 4 = OD 0ppm Probe 6) OD Pr.6 > OD Pr.3 > OD 0ppm
VT	4			ja	
VT	9				
VT	2b			ja	

5.1.2 ELISA-Methoden (β -Lactoglobulin)

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1 Level 2,5 mg/kg		Ergebnis Probe 2 Level 25 mg/kg		Ergebnis Probe 3 Level 0,25 mg/kg		Ergebnis Probe 4 Nullprobe		Ergebnis Probe 5 Level 12,5 mg/kg		Ergebnis Probe 6 Level 1,25 mg/kg		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat																z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
MI-L	6b	09.04.	positiv	0,05	positiv	0,54	negativ	<0,031	negativ	<0,031	positiv	0,23	negativ	<0,031	0,031	0,031		beta-Lactoglobulin	Morinaga β Lac ELISA Kit II

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer:

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	
MI-L	6b	β Lactoglobulin	lt. Herstellerangaben	ja	

5.1.3 LC-MS-Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der	Ergebnis Probe 1 Level 2,5 mg/kg		Ergebnis Probe 2 Level 25 mg/kg		Ergebnis Probe 3 Level 0,25 mg/kg		Ergebnis Probe 4 Nullprobe		Ergebnis Probe 5 Level 12,5 mg/kg		Ergebnis Probe 6 Level 1,25 mg/kg		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg		
LC-MS/MS	3	03/05/18 09/05/18	positiv	< 10	positiv	30,7	negativ	< 10	negativ	< 10	positiv	14,3	positiv	< 10	1/3 LOQ	10	0,4	Magermilchpulver	Test-Kit + Anbieter / Literatur LC-MS/MS

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer:

Meth. Abk.	Auswerte-	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und	Methode	Sonstige Hinweise
LC-MS/MS	3	Markerpeptide alpha-S1- Casein	wässrige Extraktion mit Harnstoff nach Hexan.-Entfettung, anschließend tryptischer Verdau und Festphasenextraktion	ja	Probe 1) schwach positives Signal, aber unterhalb LOQ Probe 3) kein Signal Probe 4) kein Signal Probe 6) schwach positives Signal; aber unterhalb LOQ

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 17-2018 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe 1,00 kg
 Microtracer FSS-rot lake
 Teilchengröße 75 – 300 µm
 Gewicht pro Partikel 2,0 µg
 Tracerzugabe 28,7 mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	100	39,8
2	5,03	91	36,2
3	4,97	93	37,4
4	5,02	96	38,2
5	4,96	92	37,1
6	5,00	96	38,4
7	5,02	88	35,1
8	4,99	94	37,7

Poisson-Verteilung			
Probenanzahl	8		
Freiheitsgrad	7		
Mittelwert	93,7	Partikel	
Standardabweichung	3,58	Partikel	
χ^2 (CHI-Quadrat)	0,96		
Wahrscheinlichkeit	100	%	
Wiederfindungsrate	131	%	

Normalverteilung			
Probenanzahl	8		
Mittelwert	37,5	mg/kg	
Standardabweichung	1,43	mg/kg	
rel. Standardabweichung	3,82	%	
Horwitz Standardabweichung	9,27	%	
HorRat-Wert	0,41		
Wiederfindungsrate	131	%	

Microtracer Homogenitätstest

DLA 17-2018 Probe 2

Gewicht Gesamtprobe 1,00 kg
 Microtracer FSS-rot lake
 Teilchengröße 75 – 300 µm
 Gewicht pro Partikel 2,0 µg
 Tracerzugabe 31,3 mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	92	36,8
2	4,99	96	38,5
3	5,03	90	35,8
4	5,07	86	33,9
5	4,97	98	39,4
6	4,99	87	34,9
7	5,06	98	38,7
8	5,04	92	36,5

Poisson-Verteilung			
Probenanzahl	8		
Freiheitsgrad	7		
Mittelwert	92,4	Partikel	
Standardabweichung	4,89	Partikel	
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,81		
Wahrscheinlichkeit	97	%	
Wiederfindungsrate	118	%	

Normalverteilung			
Probenanzahl	8		
Mittelwert	36,8	mg/kg	
Standardabweichung	1,95	mg/kg	
rel. Standardabweichung	5,30	%	
Horwitz Standardabweichung	9,30	%	
HorRat-Wert	0,57		
Wiederfindungsrate	118	%	

Microtracer Homogenitätstest

DLA 17-2018 Probe 3

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	24,5	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,97	57	22,9
2	5,06	72	28,5
3	5,08	70	27,6
4	4,96	62	25,0
5	5,03	64	25,4
6	5,00	66	26,4
7	5,07	58	22,9
8	5,00	61	24,4

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	63,7	Partikel
Standardabweichung	5,07	Partikel
χ ² (CHI-Quadrat)	2,83	
Wahrscheinlichkeit	90	%
Wiederfindungsrate	104	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,4	mg/kg
Standardabweichung	2,02	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,96	%
Horwitz Standardabweichung	9,83	%
HorRat-Wert	0,81	
Wiederfindungsrate	104	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA 17-2018 Probe 5

Gewicht Gesamtprobe	1,04	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	19,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	51	20,4
2	5,04	59	23,4
3	5,00	51	20,4
4	5,05	64	25,3
5	5,00	62	24,8
6	4,96	55	22,2
7	4,97	63	25,4
8	5,07	57	22,5

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	57,7	Partikel
Standardabweichung	5,07	Partikel
χ ² (CHI-Quadrat)	3,12	
Wahrscheinlichkeit	87	%
Wiederfindungsrate	117	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	23,1	mg/kg
Standardabweichung	2,02	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,78	%
Horwitz Standardabweichung	10,0	%
HorRat-Wert	0,88	
Wiederfindungsrate	117	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 17-2018 Probe Nr6**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	20,9	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	69	27,7
2	4,97	72	29,0
3	5,03	66	26,2
4	5,03	68	27,0
5	4,99	82	32,9
6	5,03	77	30,6
7	5,03	74	29,4
8	5,00	64	25,6

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	71,5	Partikel
Standardabweichung	6,06	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,59	
Wahrscheinlichkeit	83	%
Wiederfindungsrate	137	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	28,6	mg/kg
Standardabweichung	2,42	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,47	%
Horwitz Standardabweichung	9,66	%
HorRat-Wert	0,88	
Wiederfindungsrate	137	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 17-2018
EP-Name	ALM-Verification Milch: 5 Proben mit Milchpulver in Getreidebrei-Matrix (Pulver) (Gehalte: 0,25 / 1,25 / 2,5 / 12,5 / 25 mg/kg), allergenes Material: Magermilchpulver
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben 1-6: Getreidebreipulver/ Zutaten: Hirse-, Reis-, Mais- und Buchweizenmehl, Thiamin sowie weitere Zusatzstoffe und das allergene Lebensmittel Magermilchpulver
Probenzahl und Probenmenge	5 unterschiedliche Proben je 20 g + 1 „Null-Probe“ 20 g
Lagerungsinformation	Proben : Raumtemperatur (Langzeit 2 - 10°C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ (optional: quantitativ): Magermilchpulver (Milch / Milchproteine / Rinder-DNA) Gehalte: Magermilchpulver 0,25 / 1,25 / 2,5 / 12,5 / 25 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise ist die Gesamtmenge zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Je ein qualitatives Ergebnis (und optional quantitativ) wird für die Proben 1-6 ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	positiv / negativ (optional: mg/kg)
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Abgabetermin	spätestens 11. Mai 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. Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		ÖSTERREICH

[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 Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. 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. EN ISO/IEC 17034:2016; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern / General requirements for the competence of reference material producers
19. ISO Guide 34:2000; General requirements for the competence of reference material producers
20. DAkS 71 SD 1/4 016; Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit nach Forderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 (2011) [Estimation and indication of the measurement uncertainty]
21. Durchführungsverordnung der Kommission/ Commission Implementing Regulation EU 828/2014; über die Anforderungen an die Bereitstellung von Informationen für Verbraucher über das Nichtvorhandensein oder das reduzierte Vorhandensein von Gluten in Lebensmitteln / on the requirements for the

- provision of information to consumers on the absence or reduced presence of gluten in food
22. Taylor et al. (2014) Establishment of reference doses for residues of allergenic foods: report of the VITAL Expert Panel, Food Chem Toxicol 63: 9-17
 23. Demmel et al. (2015) Kap. 4.1 Existierende Aktionswerte, in: Allergene in Lebensmitteln, Behr's Verlag, Hamburg [Chapter 4.1 Existing Action Levels, in Allergens in Foods]
 24. 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
 25. 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
 26. 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
 27. 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
 28. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
 29. 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)
 30. 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)
 31. 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)
 32. 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
 33. 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
 34. 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
 35. 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]
 36. 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]
 37. 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]
 38. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, determination of soya (Glycine max) in cereal flour by real-time PCR]
 39. 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]
40. 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 (2017) [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]
 41. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (*Triticum* L.) und Roggen (*Secale cereale*) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of wheat (*Triticum* L.) and rye (*Secale cereale*) in boiled sausages by real-time PCR]
 42. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (*Bos domesticus*), Besler M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, <http://www.food-allergens.de>

DLA 17/2018 - ALM Verification: Milch

9 von 10 Teilnehmern haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Es wurden 5 Proben mit unterschiedlichen Magermilchpulvergehalten von 0,25 bis 25 mg/kg in der Matrix Getreidebrei, sowie eine Matrix-„Nullprobe“ mit ELISA- und LC/MS-Methoden untersucht. Als „Action Level“ wurde ein Gehalt von 2,5 mg/kg gewählt. Das Dotierungsmaterial bestand aus einer Mischung von Magermilchpulvern aus 5 Ländern (Europa, USA).

77% der Teilnehmerergebnisse haben die „Action Level“-Probe als „positiv“ erfasst und eine Bewertung in Form von ALM-Scores (1-5) erhalten. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für alle quantitativen Ergebnisse ermittelt (WFR-Scores). Statistische Kenndaten der Action Level Probe und des höchsten Levels wurden informativ für die ELISA-Methoden angegeben. Weitere Details sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

4 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien Österreich, Schweiz).