



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 01/2019

Allergene I:

Milch (Casein) und Soja

in Saucenpulver

DLA - Proficiency Tests GmbH

Kalte Weide 21

24641 Sievershütten/Germany

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

Koordinator der LVU:

Dr. Matthias Besler-Scharf

1. Korrektur 17.06.2019:

In der Tabelle "Quantitative Auswertung ELISA: Probe A" für Milchprotein (S. 37) ist ein Fehler aufgetreten:

Die z-Scores für die Auswertenummern 12b, 6 und 17 wurden falsch angegeben. Die Tabelle wurde entsprechend korrigiert. Die zugehörige Darstellung der z-Scores in Abb. 15 war korrekt (S. 40).

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	DLA - Proficiency Tests GmbH Kalte Weide 21, 24641 Sievershütten, Germany Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Geschäftsführerin/Deputy CEO: Alexandra Scharf MSc. 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 01/2019
<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. Juni 2019) 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> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 17. Juni 2019
<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 Milch.....	22
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein.....	22
4.1.2 ELISA-Ergebnisse: Milchprotein, gesamt.....	36
4.1.3 PCR-Ergebnisse: Milch.....	50
4.2 Vergleichsuntersuchung Soja.....	51
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein).....	51
4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Soja als Soja Trypsin Inhibitor.....	59
4.2.3 PCR-Ergebnisse: Soja.....	67
5. Dokumentation.....	72
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	72
5.1.1 ELISA: Casein.....	72
5.1.2 ELISA: Milchprotein.....	74
5.1.3 ELISA: Sojaprotein.....	75
5.1.4 ELISA: Soja Trypsin Inhibitor.....	77
5.1.5 PCR: Soja.....	78
5.2 Homogenität.....	79
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	79
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	80
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	81
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	82

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 handelsübliches Instant-Saucenpulver. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben (mesh 2,0 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Magermilchpulver und Sojamehl 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 4 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
Bratensauce Zutaten: Maltodextrin, Stärke, modifizierte Stärke, jodiertes Salz, Weizenmehl, Zucker, Aromen, Hefeextrakt, Zwiebeln, Gewürze, Karamell, Tomatenpulver, Maiskeimöl, Malzextrakt, Säureregulatoren: Natriumdiacetat, Calciumlactat, Säuerungsmittel: Citronensäure, Milchsäure, Thymian Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß <5,0 g, Kohlenhydrate 73 g, Fett <5,0 g, Salz 12 g	99,9 g/100 g	100 g/100g	-
Kartoffelpüree Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100 g
Milch: Magermilchpulver-Mischung (9 Produkte aus Europa, USA) - als Magermilchpulver* - davon 33,0% Gesamtprotein** - davon Casein*** - davon β -Lactoglobulin***	50,6 mg/kg 16,7 mg/kg 13,4 mg/kg 5,6 mg/kg # s.Hinweis	- (positiv)	53,3 mg/kg 17,6 mg/kg 14,1 mg/kg 5,3 mg/kg
Soja: Sojamehl-Mischung, getoastet (6 Produkte aus Asien, Europa, Nordamerika) - als Sojamehl* - davon 37,8% Gesamtprotein** - davon Soja Trypsin Inhibitor***	98,0 mg/kg 37,1 mg/kg 5,57 mg/kg	-	98,0 mg/kg 37,1 mg/kg 5,57 mg/kg
weitere Zutaten: Maltodextrin	<0,1 g/100 g	-	<0,1 g/100 g

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

** Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit $F=6,38$ für Milchprotein und $F=5,71$ für Sojaprotein)

*** Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10% β -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [36]; ca. 15% Soja Trypsin Inhibitor in Sojaprotein [37])

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

Probe A enthält zusätzlich Gesamt-Milchprotein bzw. Casein aus der Matrix Bratensauce, wie in Probe B bestimmt. Für die Berechnung der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse wurden daher die durchschnittlichen Gehalte an Gesamt-Milchprotein und Casein von Probe B berücksichtigt. Es ergeben sich nachstehende Sollwerte für **Probe A: Gesamt-Milchprotein 44,0 mg/kg** und **Casein 34,4 mg/kg**.

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben A und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 86% bzw. 74% 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 1,0 bzw. 1,0 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A

Durchführung der Homogenitätstests

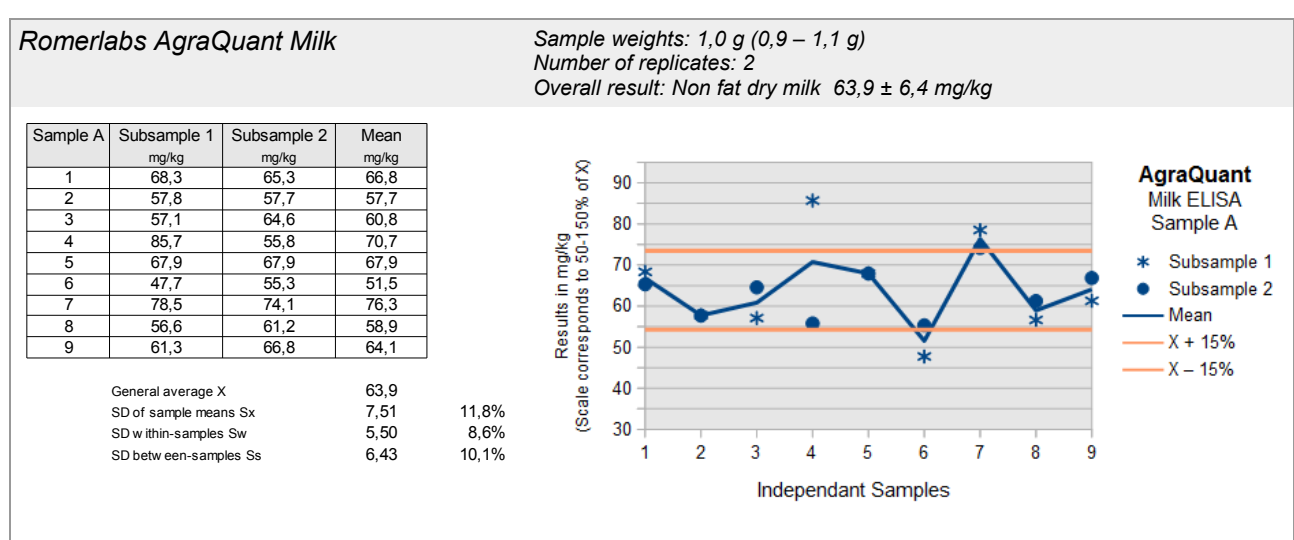
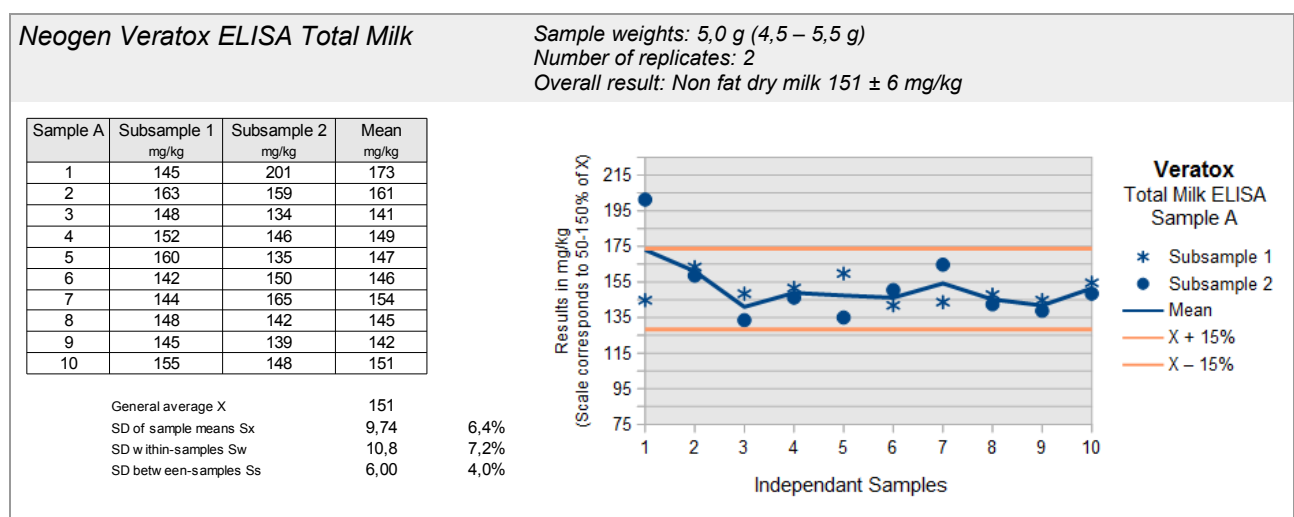
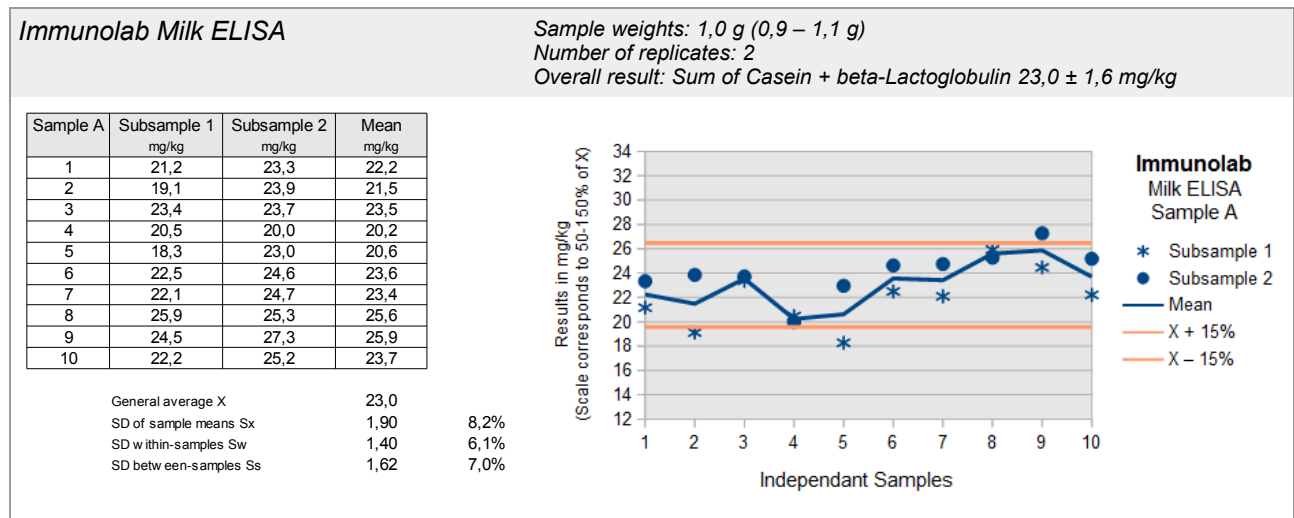
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur 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 Analysenergebnisse 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 A in allen ELISA-Tests sowohl für Milch (Immunolab, Veratox und AgraQuant) als auch für Soja (Immunolab, Veratox und AgraQuant) erfüllt (s. Seite 7). 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 Milch / Homogeneity Milk



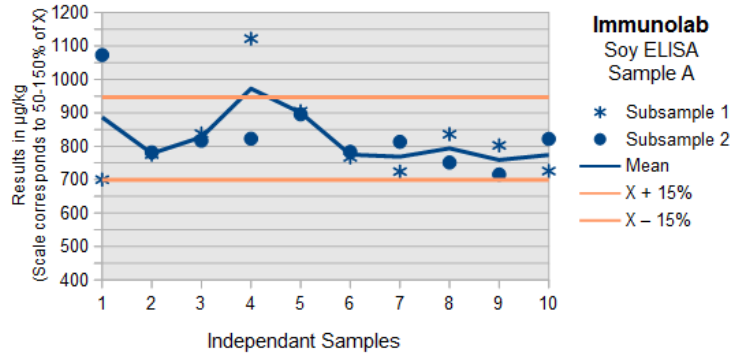
ELISA-Tests: Homogenität Soja / Homogeneity Soya

Immunolab Soy ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Soy trypsin inhibitor 823 ± 44 µg/kg

Sample A	Subsample 1 µg/kg	Subsample 2 µg/kg	Mean µg/kg
1	700	1073	886
2	775	782	778
3	838	816	827
4	1122	823	972
5	905	895	900
6	767	783	775
7	724	813	769
8	836	751	794
9	803	716	759
10	726	822	774

General average X 823
 SD of sample means Sx 72,1 8,8%
 SD within-samples Sw 80,7 9,8%
 SD between-samples Ss 44,1 5,3%

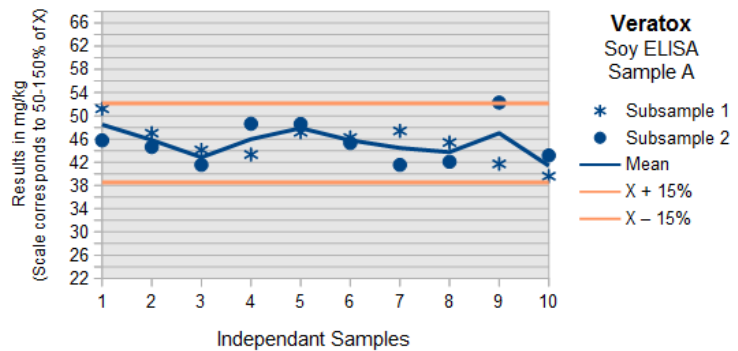


Neogen Veratox ELISA Soy

Sample weights: 5,0 g (4,5 – 5,5 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Soyflour 45,3 ± 1,4 mg/kg

Sample A	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	51,2	45,8	48,5
2	47,0	44,6	45,8
3	44,1	41,6	42,8
4	43,3	48,6	46,0
5	47,2	48,6	47,9
6	46,3	45,3	45,8
7	47,4	41,5	44,5
8	45,4	42,1	43,8
9	41,7	52,3	47,0
10	39,6	43,2	41,4

General average X 45,3
 SD of sample means Sx 2,24 4,9%
 SD within-samples Sw 2,46 5,4%
 SD between-samples Ss 1,41 3,1%

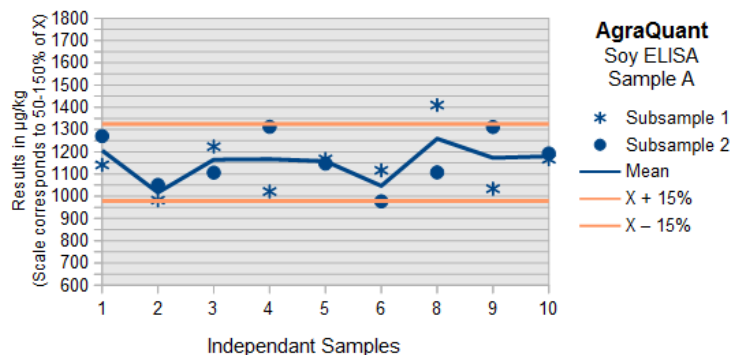


Romerlabs AgraQuant Soy

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Soy trypsin inhibitor 1150 ± 37 µg/kg

Sample A	Subsample 1 µg/kg	Subsample 2 µg/kg	Mean µg/kg
1	1141	1270	1206
2	982	1051	1017
3	1223	1106	1165
4	1022	1312	1167
5	1168	1147	1157
6	1117	977	1047
8	1410	1108	1259
9	1034	1311	1173
10	1166	1192	1179

General average X 1152
 SD of sample means Sx 75,1 6,5%
 SD within-samples Sw 92,5 8,0%
 SD between-samples Ss 36,9 3,2%



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. $0,14-0,18$ ($22-24^\circ\text{C}$). 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 04. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 08. März 2019.

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 Milch (Casein) und/oder Soja im mg/kg Bereich in der Matrix Saucenpulver. 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. Hinweis: Für die als Nullprobe vorgesehene Matrixprobe (A oder B) kann nicht garantiert werden, dass sie tatsächlich "allergenfrei" ist.

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 24 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: $\Delta \text{Median} - \text{rob. Mittelwert} > 0,3 \sigma_{pt}$) [3].

Voraussetzung ist, dass die Mehrzahl der Ergebnisse der teilnehmenden Laboratorien einer Normalverteilung unterliegen bzw. unimodal und symmetrisch verteilt sind. Hierzu erfolgt eine Prüfung der Verteilung u.a. anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Falls Hinweise für Quellen von höherer Variabilität, wie z.B. eine bimodale Verteilung der Ergebnisse, vorliegen, werden Ursachen dafür gesucht. In Frage kommt häufig die Verwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden. Ist dies der Fall, werden nach Möglichkeit getrennte Auswertungen mit eigenen zugewiesenen Werten (X_{pti}) vorgenommen.

Bei den 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 Einzelmethode** - $S^*_{METHOD i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen, 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 Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung σ_R abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung σ_R kann als relative Zielstandardabweichung σ_{pt} in % des zugewiesenen Wertes verwendet werden und nach untenstehenden Gleichungen berechnet werden [3]. Dabei wird für die Konzentration c der zugewiesene Wert X_{pt} eingesetzt.

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

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

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

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

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

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

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 - 33% 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} [32-35]

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

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

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

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

Diese Zielstandardabweichung wurde zur statistischen Bewertung der Ergebnisse mittels z-Score bzw. falls erforderlich mittels z'-Score herangezogen und auf alle unter 3.1 angegebenen Bezugswerte angewandt.

3.5 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung (σ_{pt}) das Ergebnis (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert (x_{pt}) abweicht [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.6 z'-Score

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss (s. 3.8). Der z'-Score drückt das Verhältnis der Abweichung des Ergebnisses (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert zur Wurzel aus der Quadratsumme von Zielstandardabweichung (σ_{pt}) und Standardunsicherheit ($U_{(x_{pt})}$) aus [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z'_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_{(x_{pt})}^2}}$$

Sofern eine Bewertung der Ergebnisse mittels z'-Score erfolgt, haben wir im Folgenden den Ausdruck im Nenner als Zielstandardabweichung σ_{pt}' definiert.

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S^*/σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

Jeder zugewiesene Wert ist mit einer Standardunsicherheit behaftet, die von der Analysenmethode, Unterschieden der eingesetzten Analysenmethoden, dem Probenmaterial und der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU beeinflusst wird. Die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes ($U_{(x_{pt})}$) wird für die vorliegende LVU wie folgt berechnet [3]:

$$u_{(x_{pt})} = 1,25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}}$$

Ist $U_{(x_{pt})} \leq 0,3 \sigma_{pt}$ muss die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes nicht berücksichtigt werden [3]. Ein deutliches Überschreiten des Wertes von 0,3 ist ein Hinweis darauf, dass die Zielstandardabweichung ggf. zu

gering für die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes gewählt wurde.

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 Einzelmethoden andererseits.

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

Für die Ergebnisse von Dotierungsniveauprobe und dotierter Probe werden Wiederfindungsraten in Bezug auf die zugesetzten Allergene (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [23]. Für quantitative PCR- oder LC/MS-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

4. Ergebnisse

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

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

Die folgenden Ergebnisseiten sind für die allergenen Bestandteile jeweils gleich aufgebaut. Es werden zunächst die Ergebnisse aller ELISA- 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.

Casein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver** angegeben wurden, sind in **Casein** umgerechnet worden. Es wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Casein in Magermilchpulver berücksichtigt (AgraQuant Casein ELISA Test-Kit Manual: Umrechnungsfaktor 3,6 (27,8%)).

Casein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Milchprotein (gesamt)** angegeben wurden, sind mit Literaturangaben [36] von 80% Casein in Gesamtmilchprotein ebenfalls in **Casein** umgerechnet worden.

Milchprotein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver** angegeben wurden, sind in **Gesamt-Milchprotein** umgerechnet worden.

Soweit vorhanden wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Gesamt-Milchprotein in Magermilchpulver berücksichtigt (Neogen Allergen-Handbuch: 35,1%). Die Ergebnisse der anderen Methoden wurden mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt des Rohstoffs (s. S.5) in Gesamt-Milchprotein umgerechnet.

Milchprotein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Summe von Casein und β -Lactoglobulin** angegeben wurden (SensiSpec ELISA), sind nicht umgerechnet worden, sondern mit dem Gesamt-Milchprotein gleichgesetzt worden. (Anmerkung: Mit dem Umrechnungsfaktor von 2,7 für Magermilchpulver aus der Testkit-Anleitung und dem experimentellen Gesamt-Milchproteingehalt der Rohware würde ansonsten ein geringerer Gehalt als ursprünglich angegeben resultieren).

Die ELISA-Ergebnisse, die als **Sojamehl/Sojabohne** angegeben wurden, sind in **Sojaprotein** umgerechnet worden. Soweit vorhanden wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Gesamtprotein in Sojamehl berücksichtigt (Neogen Allergen-Handbuch: 47,01%). Die Er-

gebnisse der anderen Methoden wurden mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt des Rohstoffs (s. S.5) in Sojaprotein umgerechnet. (siehe S. 5).

Die ELISA-Ergebnisse, die als **Sojatripsininhibitor (STI)** angegeben wurden, wurden separat als solche ausgewertet.

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

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

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

Auswertenummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score X_{ptALL}	z-Score X_{ptMi}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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

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

^o 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 Milch

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
1	positiv	13,3	positiv	8,30	2/2 (100%)	AQ	
4	positiv	21,7	positiv	14,4	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
6	positiv	12,3	positiv	8,71	2/2 (100%)	AQ	
15	positiv	10,2	positiv	6,60	2/2 (100%)	AQ	
19	positiv	18,8	positiv	14,6	2/2 (100%)	AQ	
7	positiv	16,5	positiv	13,8	2/2 (100%)	BF	Ergebnis umgerechnet °
16	positiv	18,5	positiv	14,0	2/2 (100%)	EF	
5	positiv	14,9	positiv	13,0	2/2 (100%)	IL	
8	positiv	47,5	positiv	29,8	2/2 (100%)	MI	Ergebnis umgerechnet °
18	positiv	34,0	positiv	28,0	2/2 (100%)	MI-II	
12	positiv	19,0	positiv	13,0	2/2 (100%)	NL	
9	positiv	43,9	positiv	32,5	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv	14,0	positiv	7,30	2/2 (100%)	RS-F	
24	positiv	35,0	positiv	25,0	2/2 (100%)	RS-F	

° Umrechnung S. 19

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

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

Der Konsenswert für Probe A steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

Die Probe B ohne zugesetzte Allergene enthielt ebenfalls Milch aus der Matrix Bratensauce. Übereinstimmend wurde von den Teilnehmern ein Konsenswert von 100% positiven Ergebnissen erhalten.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{AQ}	Methode	Hinweis
1	13,3	-1,3	-0,5	AQ	
4	21,7	0,0	1,7	AQ	Ergebnis umgerechnet °
6	12,3	-1,4	-0,8	AQ	
15	10,2	-1,7	-1,3	AQ	
19	18,8	-0,5	0,9	AQ	
7	16,5	-0,8		BF	Ergebnis umgerechnet °
16	18,5	-0,5		EF	
5	14,9	-1,1		IL	
8	47,5	3,8		MI	Ergebnis umgerechnet °
18	34,0	1,7		MI-II	
12	19,0	-0,4		NL	
9	43,9	3,2		RS-F	
11	14,0	-1,2		RS-F	
24	35,0	1,9		RS-F	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

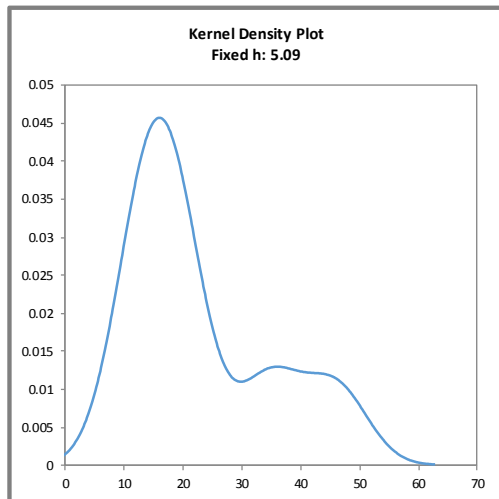


Abb. / Fig. 1:

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 einem zusätzlichen breiten Peak mit zwei Maxima zwischen 30-60 mg/kg, der auf mehrere Einzelwerte der Methoden MI, MI-II und RS-F zurückzuführen ist.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode AQ [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}^{ALL}	$X_{pt}^{METHOD AQ}$
Anzahl der Messergebnisse	14	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	22,8	15,3
Median	18,7	13,3
Robuster Mittelwert (X_{pt})	22,0	15,3
Robuste Standardabweichung (S^*)	11,9	5,45
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	6,79	3,82
Untere Grenze des Zielbereichs	8,41	7,63
Obere Grenze des Zielbereichs	35,6	22,9
Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}	1,8	1,4
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	3,99	3,05
Ergebnisse im Zielbereich	12	5
Prozent im Zielbereich	86	100

Methode:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (höhere Werte gehen auf Einzelergebnisse zurück).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} größer 2,0 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann unter 2,0.

Die Auswertung der Ergebnisse der Methode AQ zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag deutlich unter 2,0.

Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 64% bzw. 44% vom Zusatzniveau von Casein zu Probe A, innerhalb bzw. knapp unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein" S.35).

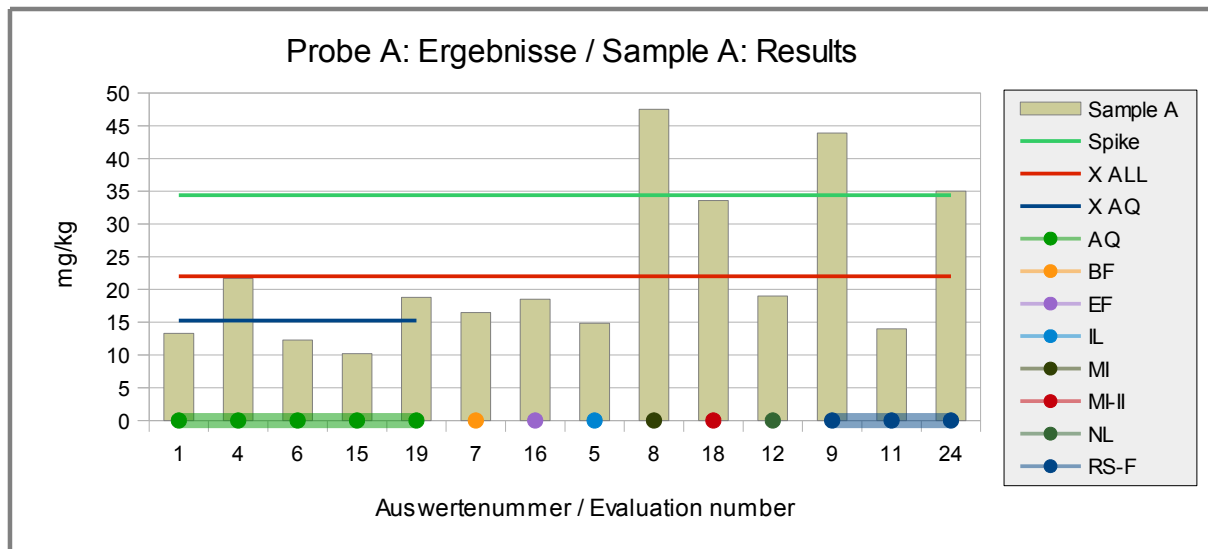


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Milch (als Casein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

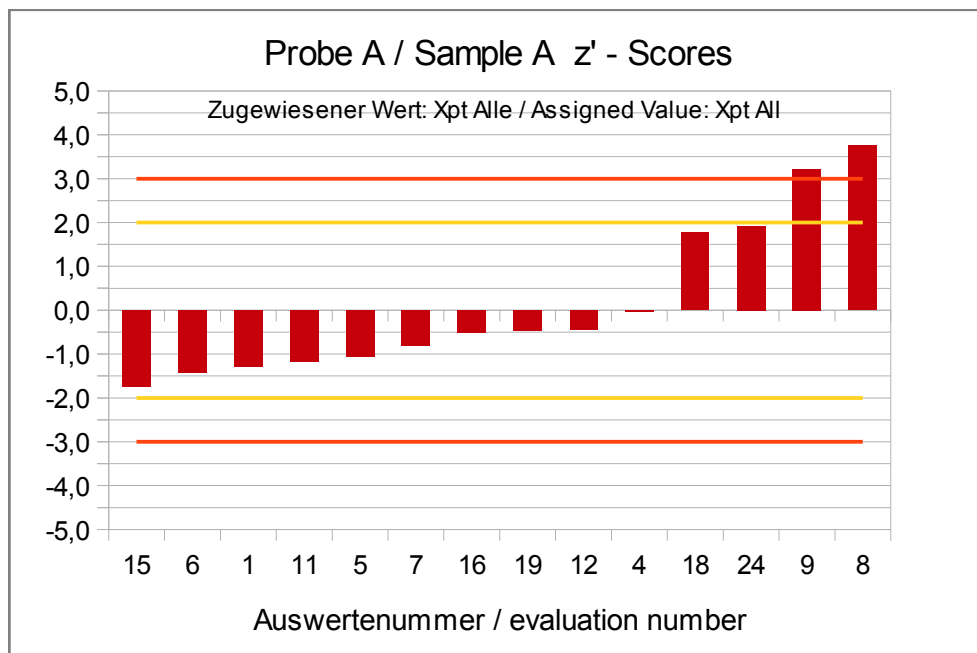


Abb./Fig. 3:
 z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

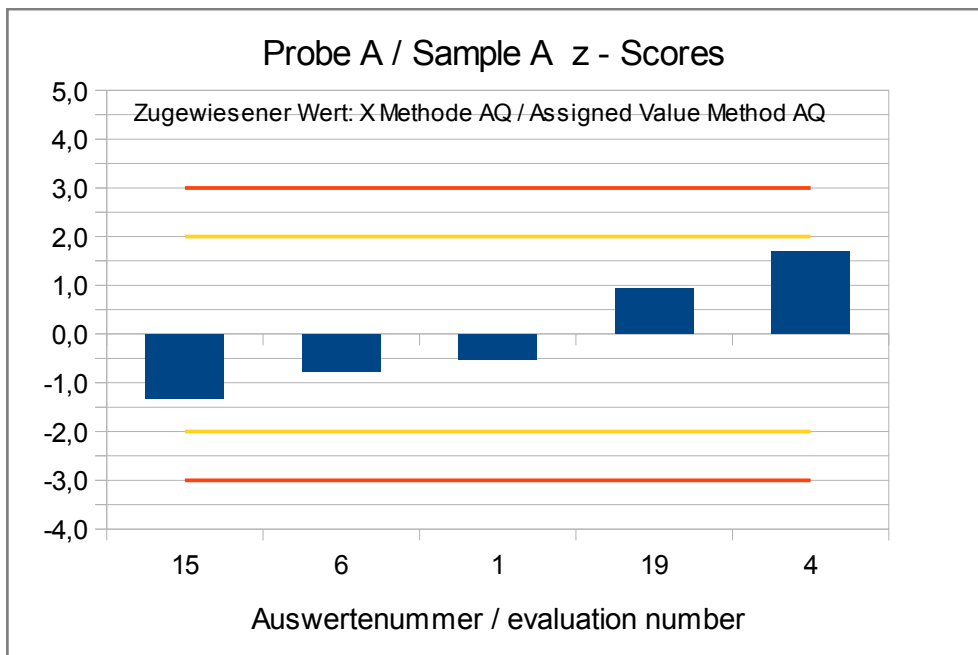


Abb./Fig. 4:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Zugewiesener Wert robuster Mittelwert
 Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{AQ}	Methode	Hinweis
1	8,30	-1,5	-0,8	AQ	
4	14,4	-0,4	1,5	AQ	Ergebnis umgerechnet °
6	8,71	-1,5	-0,7	AQ	
15	6,60	-1,9	-1,5	AQ	
19	14,6	-0,3	1,6	AQ	
7	13,8	-0,5		BF	Ergebnis umgerechnet °
16	14,0	-0,4		EF	
5	13,0	-0,6		IL	
8	29,8	2,6		MI	Ergebnis umgerechnet °
18	28,0	2,3		MI-II	
12	13,0	-0,6		NL	
9	32,5	3,2		RS-F	
11	7,30	-1,7		RS-F	
24	25,0	1,7		RS-F	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutrilinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

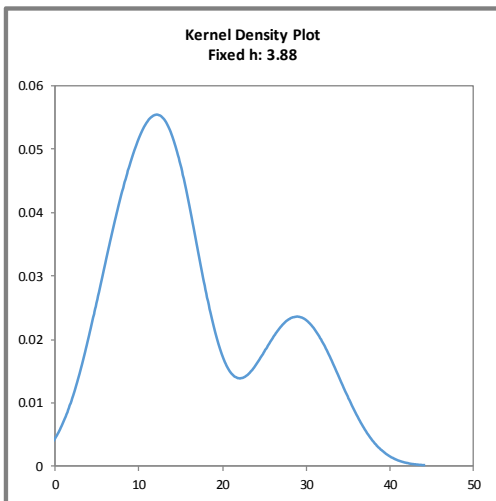


Abb. / Fig. 5:

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 der Ergebnisse des Hauptpeaks sowie einen Nebenpeak bei ca. 30 mg/kg (Methoden MI, MI-II und RS-F).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein

Probe B

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode AQ [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD_AQ}$
Anzahl der Messergebnisse	14	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	16,4	10,5
Median	13,9	8,71
Robuster Mittelwert (X_{pt})	16,2	10,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	9,63	4,22
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	5,17	2,63
Untere Grenze des Zielbereichs	5,87	5,26
Obere Grenze des Zielbereichs	26,6	15,8
<i>Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}</i>	<i>1,9</i>	<i>1,6</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>3,22</i>	<i>2,36</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>11</i>	<i>5</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>79</i>	<i>100</i>

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (höhere Werte gehen auf Einzelergebnisse zurück).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} größer 2,0 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann unter 2,0.

Die Auswertung der Ergebnisse der Methode AQ zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag 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.

Probe B wurden keine Allergene zugesetzt. Daher konnten keine Wiederfindungsraten für Probe B berechnet werden. Die Gehalte stammen aus der Matrix Bratensaucenpulver.

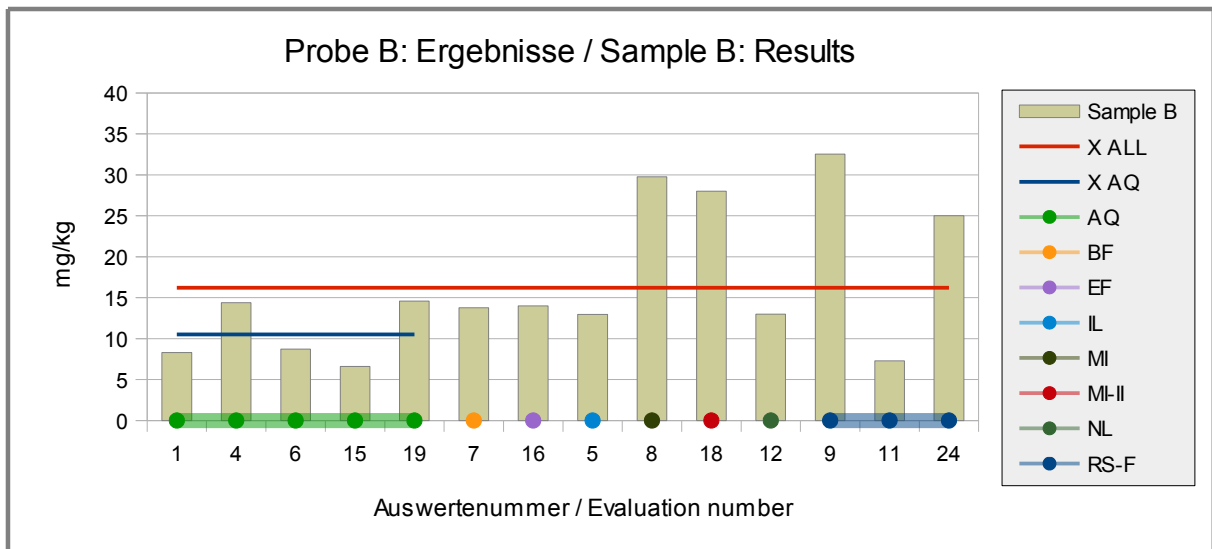


Abb./Fig. 6: ELISA-Ergebnisse Casein
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

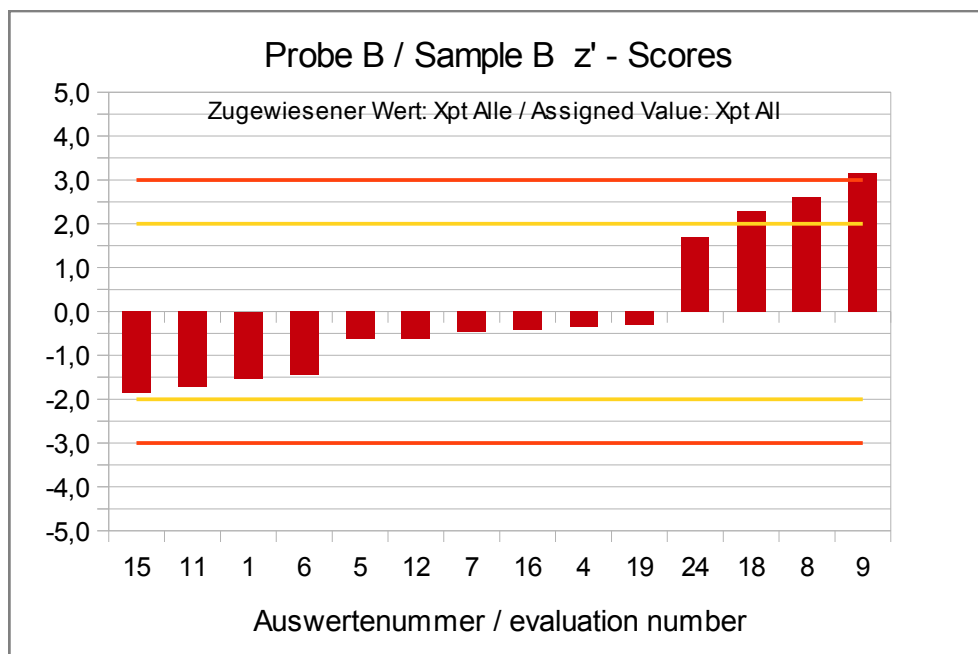


Abb./Fig. 7: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

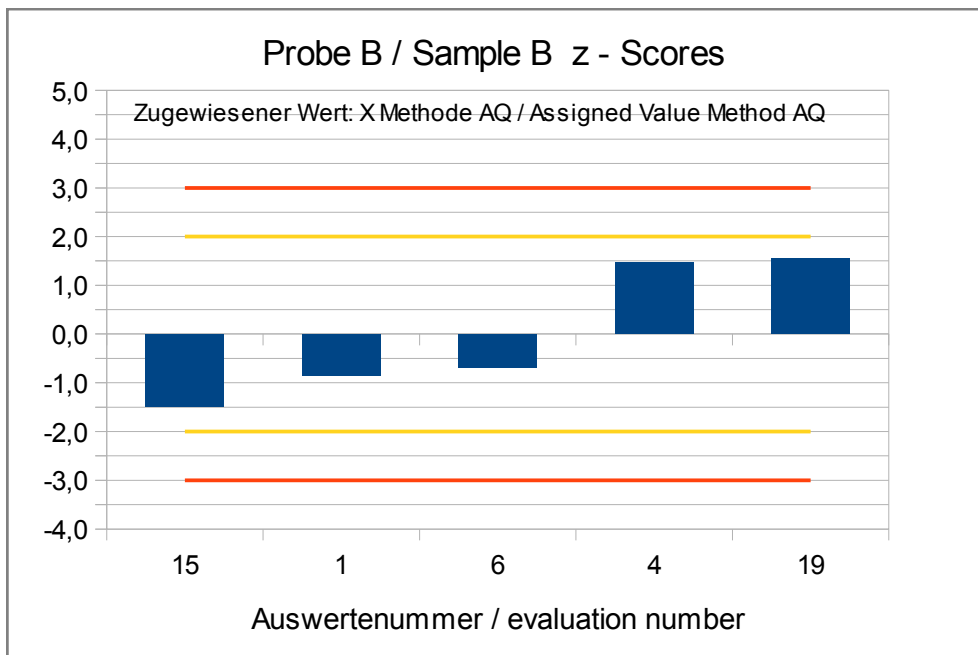


Abb./Fig. 8:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Bezugswert robuster Mittelwert
 Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{AQ}	Methode	Hinweis
1	22,5	0,8	0,7	AQ	
4	22,5	0,8	0,7	AQ	Ergebnis umgerechnet °
6	16,0	-0,6	-0,7	AQ	
15	11,6	-1,5	-1,6	AQ	
19	23,4	1,0	0,9	AQ	
7	18,2	-0,1		BF	Ergebnis umgerechnet °
16	17,6	-0,3		EF	
5	26,4	1,6		IL	
8	18,8	0,0		MI	Ergebnis umgerechnet °
18	14,0	-1,0		MI-II	
12	21,0	0,5		NL	
9	22,5	0,8		RS-F	
11	4,40	-3,1		RS-F	
24	18,0	-0,2		RS-F	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

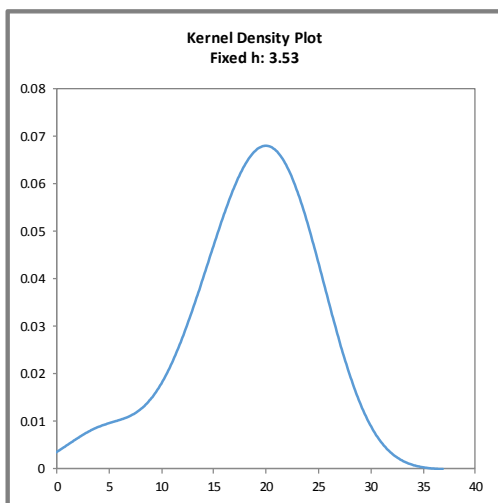


Abb. / Fig. 9:

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 mit einer Schulter bei ca. 5 mg/kg, die auf einen Einzelwert zurückgeht (Methode RS-F).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode AQ [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}	$X_{pt}_{METHOD AQ}$
Anzahl der Messergebnisse	14	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	18,3	19,2
Median	18,5	22,5
Robuster Mittelwert (X_{pt})	18,8	19,2
Robuste Standardabweichung (S^*)	5,15	5,88
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,71	4,80
Untere Grenze des Zielbereichs	9,41	9,60
Obere Grenze des Zielbereichs	28,2	28,8
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	1,2
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	1,72	3,29
Ergebnisse im Zielbereich	13	5
Prozent im Zielbereich	93	100

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen Methoden-abhängigen Unterschiede (ein hoher Einzelwert).

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 134% bzw. 136% vom Zusatzniveau von Casein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein", s. S.35).

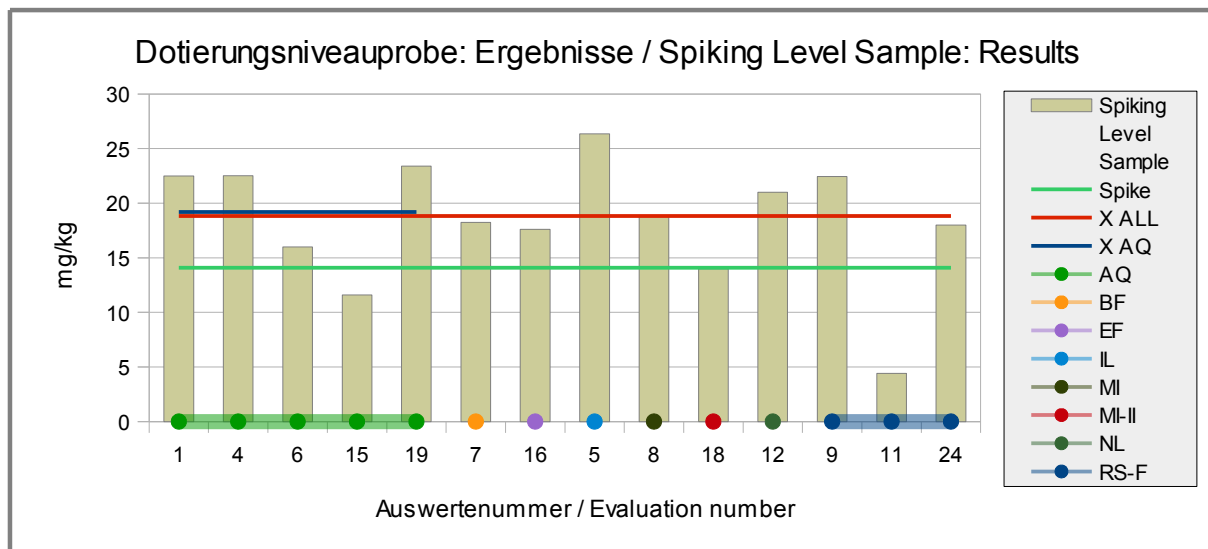


Abb./Fig. 10: ELISA-Ergebnisse Casein
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

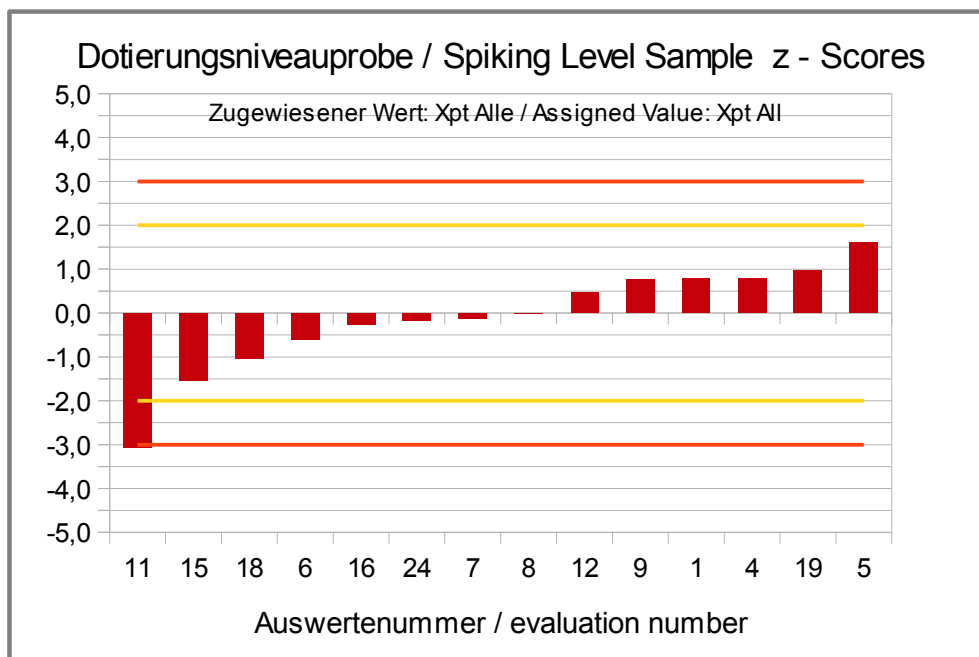


Abb./Fig. 11: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

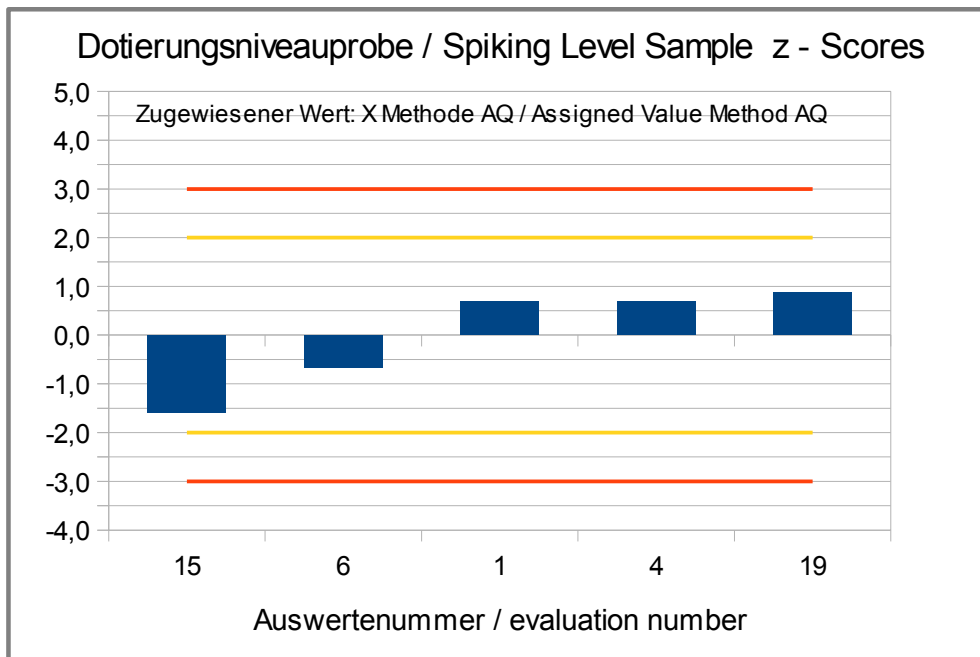


Abb./Fig. 12:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Bezugswert robuster Mittelwert
Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
1	22,5	160	13,3	39	AQ	
4	22,5	160	21,7	63	AQ	Ergebnis umgerechnet °
6	16,0	113	12,3	36	AQ	
15	11,6	82	10,2	30	AQ	
19	23,4	166	18,8	55	AQ	
7	18,2	129	16,5	48	BF	Ergebnis umgerechnet °
16	17,6	125	18,5	54	EF	
5	26,4	187	14,9	43	IL	
8	18,8	133	47,5	138	MI	Ergebnis umgerechnet °
18	14,0	99	34,0	99	MI-II	
12	21,0	149	19,0	55	NL	
9	22,5	159	43,9	128	RS-F	
11	4,40	31	14,0	41	RS-F	
24	18,0	128	35,0	102	RS-F	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	8	Anzahl im AB	8
Prozent im AB	57	Prozent im AB	57

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

MI = Morinaga Institute ELISA

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

Jeweils 57% (8) der Teilnehmer haben für die Dotierungsniveauprobe bzw. für die Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

Zur Berechnung der Sollwerte für Probe A:

Probe A enthält neben dem Zusatz von Magermilchpulver (s. S. 5) zusätzlich Gesamt-Milchprotein bzw. Casein aus der Matrix Bratensaucenpulver. Für die Berechnung der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse wurden daher die durchschnittlichen Gehalte an Gesamt-Milchprotein und Casein von Probe B berücksichtigt. Die Ergebnisse für Probe B wurden als 100% Gehalt in der Matrix gesetzt, der zugesetzte Gehalt zu Probe A entspricht dann ca. weiteren 41%. Daraus ergeben sich in der Summe nachstehende Sollwerte die für die Berechnung der Wiederfindungsrate für Probe A herangezogen wurden: Gesamt-Milchprotein 44,0 mg/kg und Casein 34,4 mg/kg.

4.1.2 ELISA-Ergebnisse: Milchprotein, gesamt

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		
4	positiv	19,2	positiv	11,1	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
12a	positiv	27,0	positiv	16,0	2/2 (100%)	AQ	
19	positiv	16,9	positiv	12,9	2/2 (100%)	AQ	
20	positiv	20,0	positiv	15,1	2/2 (100%)	AQ	
16	positiv	21,7	positiv	10,8	2/2 (100%)	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
23	positiv	25,0	positiv	15,0	2/2 (100%)	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
8	positiv	54,5	positiv	26,6	2/2 (100%)	MI-II	
12b	positiv	26,0	positiv	16,0	2/2 (100%)	NL	
5	positiv	55,7	positiv	37,9	2/2 (100%)	RS-F	
9	positiv	67,9	positiv	42,3	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv	109	positiv	60,0	2/2 (100%)	RS-F	
21	positiv	47,9	positiv	32,5	2/2 (100%)	RS-F	
3	positiv	>25.0	positiv	>25.0	2/2 (100%)	VT	
6	positiv	33,3	positiv	19,1	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	positiv	38,6	positiv	32,3	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

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

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Der Konsenswert für Probe A stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

Die Probe B ohne zugesetzte Allergene enthielt ebenfalls Milch aus der Matrix Bratensauce. Übereinstimmend wurde von den Teilnehmern ein Konsenswert von 100% positiven Ergebnissen erhalten.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Probe A	z-Score X _{pt₂₅}	z-Score X _{pt₅₆}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
4	19,2	-0,9		AQ	Ergebnis umgerechnet °
12a	27,0	0,3		AQ	
19	16,9	-1,3		AQ	
20	20,0	-0,8		AQ	
16	21,7	-0,5		EF	Summe β-LActoglobulin + Casein
23	25,0	0,0		EF	Summe β-LActoglobulin + Casein
8	54,5		-0,1	MI-II	
12b	26,0	0,2		NL	
5	55,7		0,0	RS-F	
9	67,9		0,9	RS-F	
11	109		3,8	RS-F	
21	47,9		-0,6	RS-F	
3	>25.0			VT	
6	33,3	1,3		VT	Ergebnis umgerechnet °
17	38,6	2,2		VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutrilinia® Allergen-ELISA
- RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

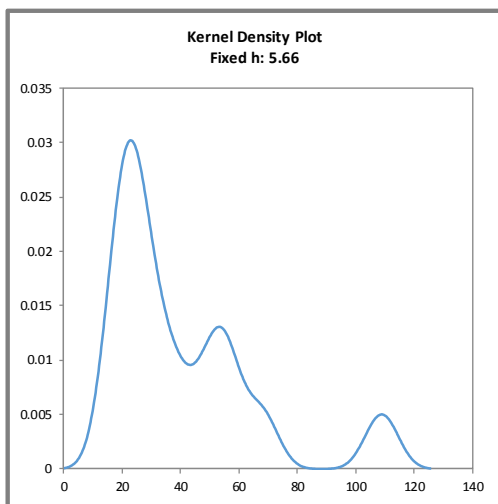


Abb. / Fig. 13:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Hauptmaximum bei ca. 25 mg/kg mit einer annähernd symmetrischen Verteilung der Ergebnisse. Desweiteren treten ein Nebenpeak bei ca. 55 mg/kg mit Schulter und ein kleinerer Peak bei ca. 110 mg/kg auf, der auf einen Einzelwert zurück zu führen ist. Die höheren Werte gehen auf die Ergebnisse der Methoden RS-F und MI-II zurück und wurden deshalb separat ausgewertet.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Milch (als Milchprotein)

Probe A

Kenndaten	Meth. Peak 25 [mg/kg]	Meth. Peak 56 [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{25}	X_{pt}_{56}
Anzahl der Messergebnisse	9	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	25,3	67,0
Median (X_{pt})⁺⁺	25,0	55,7
Robuster Mittelwert (X_{pt})⁺	25,0	65,8
Robuste Standardabweichung (S*)	7,26	20,0
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	6,25	13,9
Untere Grenze des Zielbereichs	12,5	27,9
Obere Grenze des Zielbereichs	37,5	83,6
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	1,2	1,4
<i>Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$</i>	3,02	11,2
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	8	4
<i>Prozent im Zielbereich</i>	89	80

* Bezugswert (X_{pt}) für Peak 25: rob. Mittelwert

** Bezugswert (X_{pt}) für Peak 56: Median

Methoden:

Peak 25 = AgraQuant, SensiSpec , nutriLinia®, Veratox

Peak 56 = Morinaga, Ridascreen Fast®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine Verteilung mit einem Haupt- und einem Nebenpeak der Ergebnisse (sowie einem weiteren Nebenpeak eines Einzelwertes). Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern zwei Auswertungen getrennt nach Methoden, die dem Hauptpeak (Peak 25) und die dem Nebenpeak Gipfel (Peak 56) zugeordnet werden können (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Verteilung der Ergebnisse von Peak 25 und der Ergebnisse von Peak 56 zeigte jeweils eine normale Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung der Ergebnisse 25 lag mit 57% vom Zusatzniveau von Milchprotein zu Probe A, innerhalb der relevanten An-

forderungen für die eingesetzten Methoden. Der Median der Auswertung der Ergebnisse 56 lag mit 127% ebenfalls innerhalb der Anforderungen (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Milchprotein", s. S.49).

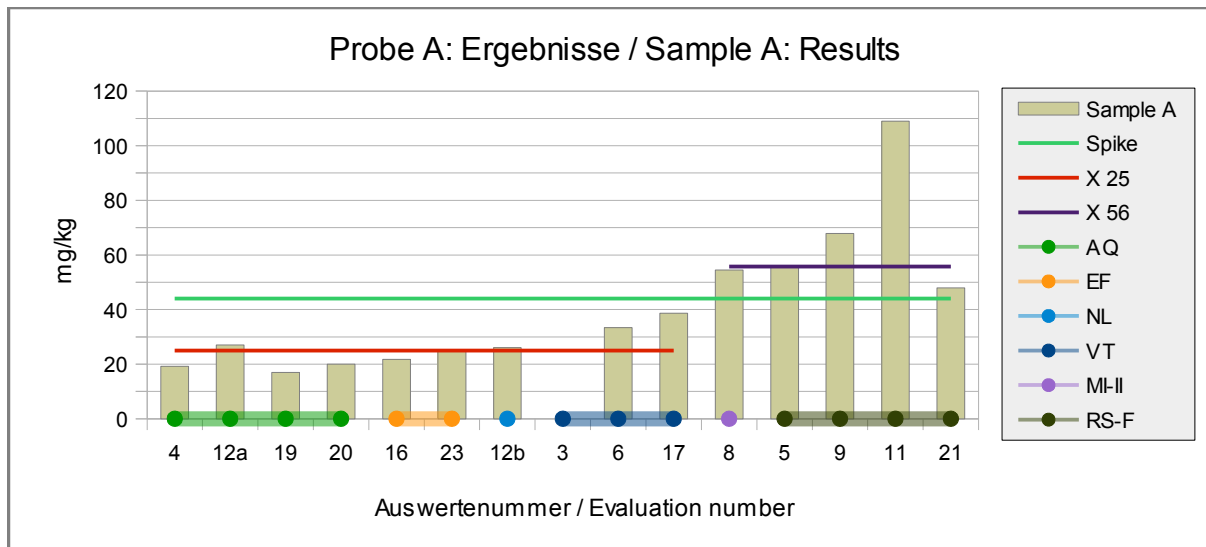


Abb./Fig. 14: ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert Peak 25
 blaue Linie = Median Peak 56
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

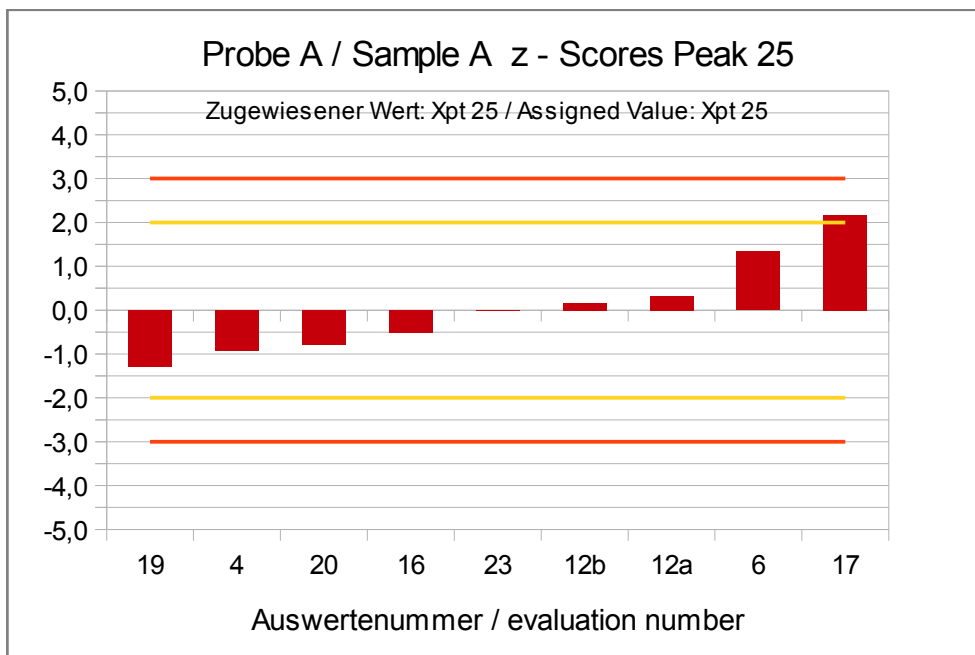


Abb./Fig. 15: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert Ergebnisse aller Methoden von Peak 25

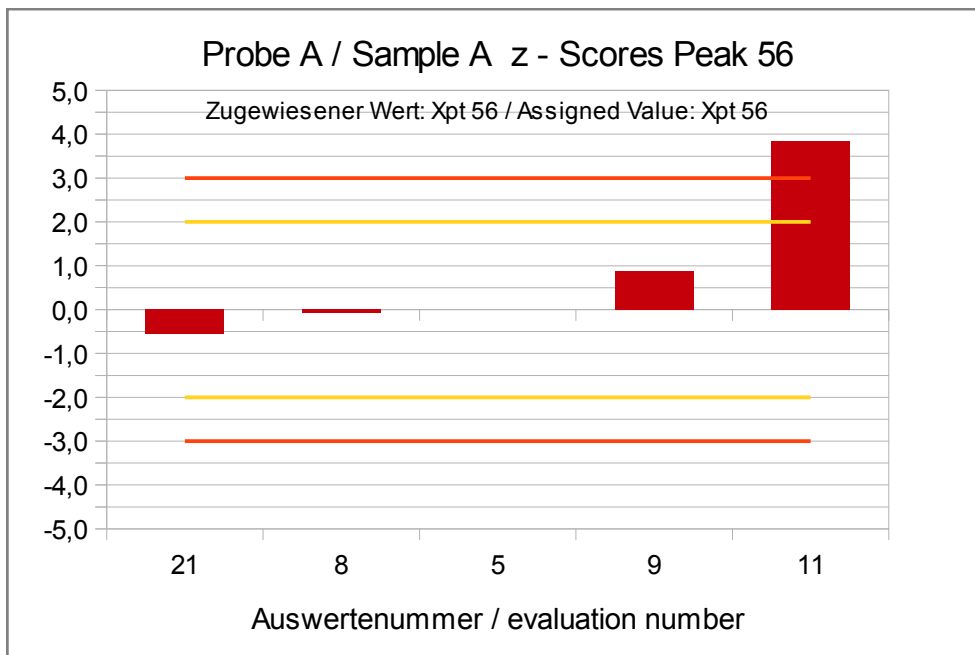


Abb./Fig. 16:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: Median Ergebnisse aller Methoden von Peak 56

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Milchprotein [mg/kg]	z-Score Xpt ₁₅	z-Score Xpt ₄₀	Methode	Hinweis
4	11,1	-1,1		AQ	Ergebnis umgerechnet °
12a	16,0	0,2		AQ	
19	12,9	-0,6		AQ	
20	15,1	0,0		AQ	
16	10,8	-1,2		EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
23	15,0	-0,1		EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
8	26,6		-1,3	MI-II	
12b	16,0	0,2		NL	
5	37,9		-0,2	RS-F	
9	42,3		0,2	RS-F	
11	60,0		2,0	RS-F	
21	32,5		-0,7	RS-F	
3	>25,0			VT	
6	19,1	1,0		VT	Ergebnis umgerechnet °
17	32,3	4,5		VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutrilinia® Allergen-ELISA
- RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

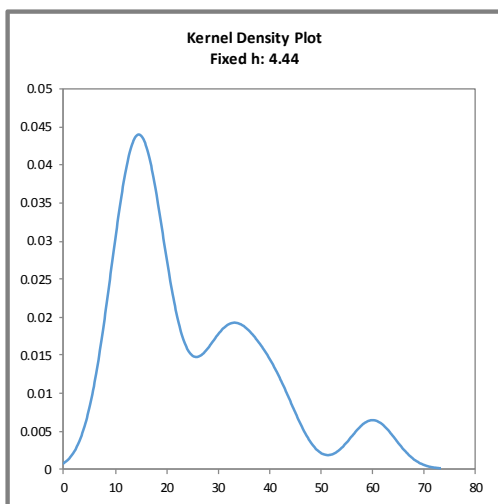


Abb. / Fig. 17:

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 ein Hauptmaximum bei ca. 15 mg/kg mit einer annähernd symmetrische Verteilung der Ergebnisse. Des Weiteren treten ein Nebenpeak bei ca. 30-40 mg/kg und ein kleinerer Peak bei ca. 60 mg/kg auf, der auf einen Einzelwert zurück zu führen ist. Die höheren Werte gehen auf die Ergebnisse der Methoden RS-F und MI-II zurück und wurden deshalb separat ausgewertet.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Milch (als Milchprotein)

Probe B

Kenndaten	Meth. Peak 15 [mg/kg]	Meth. Peak 40 [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{15}}$	$X_{pt_{40}}$
Anzahl der Messergebnisse	9	5
Anzahl der Ausreißer	-	0
Mittelwert	16,5	39,9
Median	15,1	37,9
Robuster Mittelwert (X_{pt})	15,2	39,9
Robuste Standardabweichung (S^*)	3,85	14,4
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	3,81	9,96
Untere Grenze des Zielbereichs	7,61	19,9
Obere Grenze des Zielbereichs	22,8	59,8
Quotient S^*/σ_{pt}	1,0	1,4
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,61	8,05
Ergebnisse im Zielbereich	8	4
Prozent im Zielbereich	89	80

Methoden:

Peak 15 = AgraQuant, SensiSpec , nutriLinia®, Veratox
Peak 40 = Morinaga, Ridascreen Fast®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine Verteilung mit einem Haupt- und einem Nebenpeak der Ergebnisse (sowie einem weiteren Nebenpeak eines Einzelwertes). Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern zwei Auswertungen getrennt nach Methoden, die dem Hauptpeak (Peak 15) und dem Nebenpeak (Peak 40) zugeordnet werden können (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Verteilung der Ergebnisse von Peak 15 und der Ergebnisse von Peak 35 zeigte jeweils eine normale Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Probe B wurden keine Allergene zugesetzt. Daher konnten keine Wiederfindungsraten für Probe B berechnet werden. Die Gehalte stammen aus der Matrix Bratensaucenpulver.

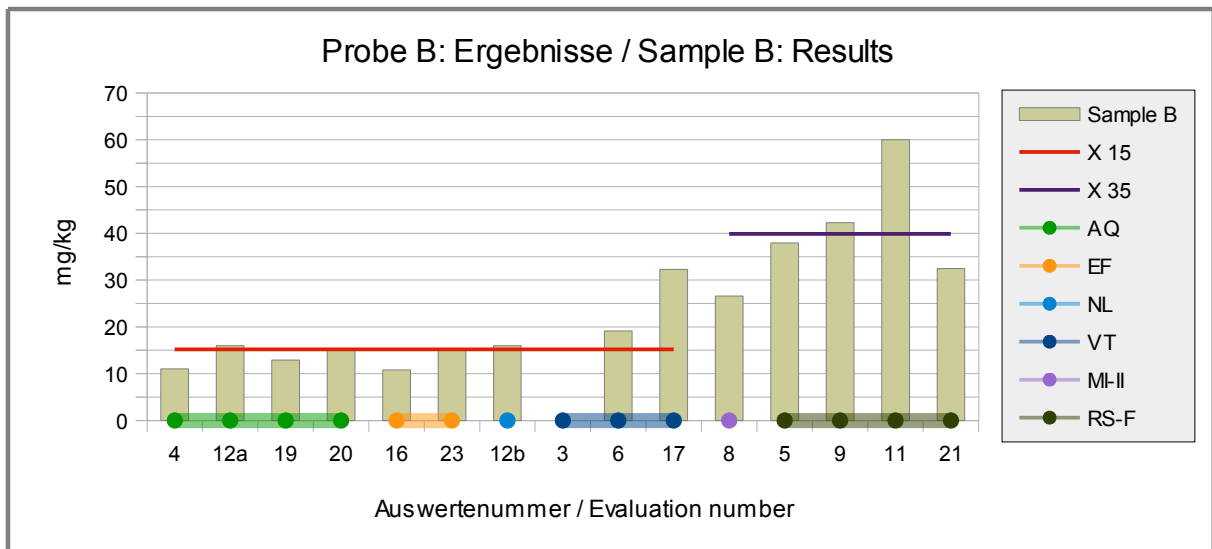


Abb./Fig. 18: ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)
 rote Linie = robuster Mittelwert Peak 15
 blaue Linie = robuster Mittelwert Peak 35
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

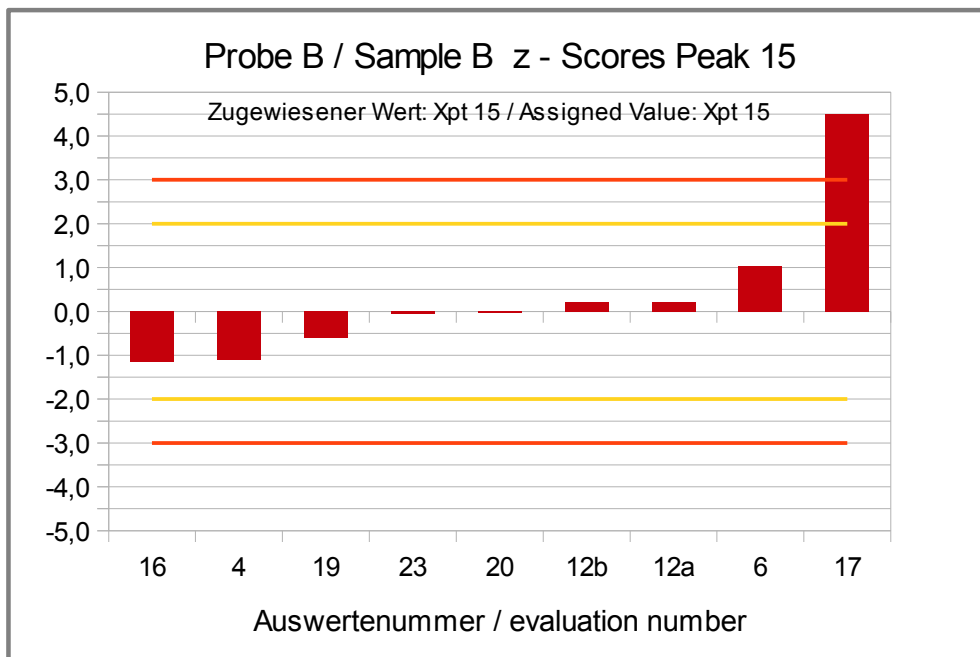


Abb./Fig. 19: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Mittelwert) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert der Ergebnisse aller Methoden von Peak 15

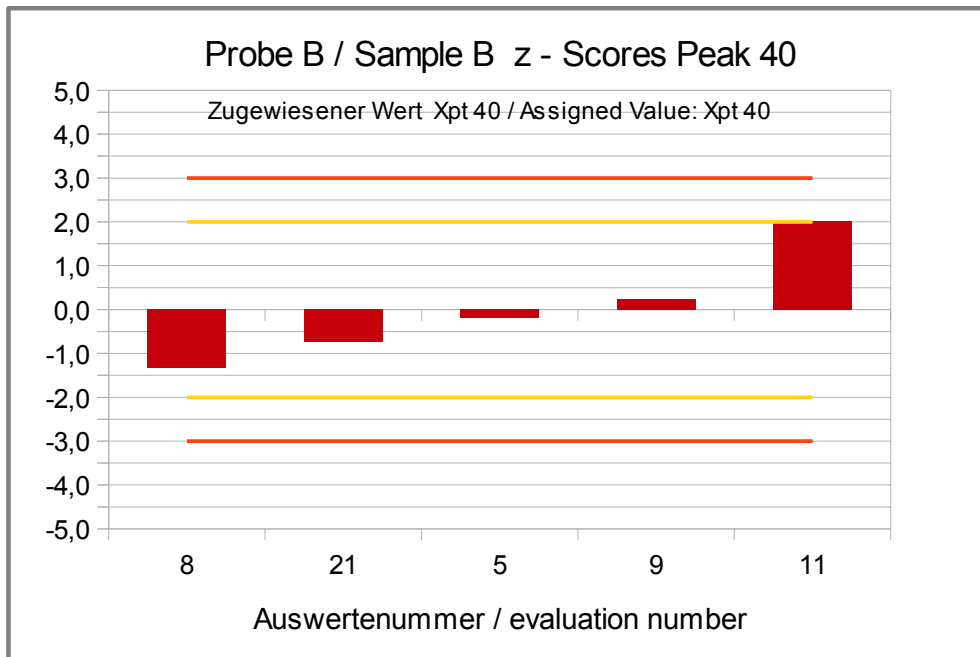


Abb./Fig. 20:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert der Ergebnisse aller Methoden von Peak 40

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	z-Score X _{pt} ^{ALL}	Methode	Hinweis
4	20,1	-0,1	AQ	Ergebnis umgerechnet °
12a	27,0	1,2	AQ	
19	22,0	0,3	AQ	
20	17,8	-0,6	AQ	
16	35,9	2,9	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
23	25,0	0,8	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
8	16,5	-0,8	MI-II	
12b	36,0	3,0	NL	
5	16,8	-0,8	RS-F	
9	20,7	0,0	RS-F	
11	57,0		RS-F	Ausreißer ausgeschlossen
21	11,9	-1,7	RS-F	
3			VT	
6	7,13	-2,6	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	15,8	-0,9	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F = Ridascree® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

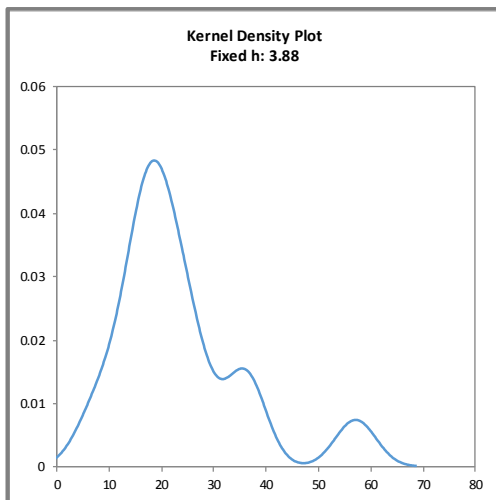


Abb. / Fig. 21:

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 sowie eine Schulter bei ca. 35 mg/kg und einen Nebenpeak bei 57 mg/kg, der auf einen Ausreißer zurückgeht (Methode RS-F).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Milch (als Milchprotein)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	13
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	21,0
Median	20,1
Robuster Mittelwert (X_{pt})	20,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	8,85
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	5,17
Untere Grenze des Zielbereichs	10,3
Obere Grenze des Zielbereichs	31,0
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	1,7
<i>Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$</i>	3,07
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	10
<i>Prozent im Zielbereich</i>	77

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

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

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 118% vom Zusatzniveau von Milchprotein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Milchprotein", s. S.49).

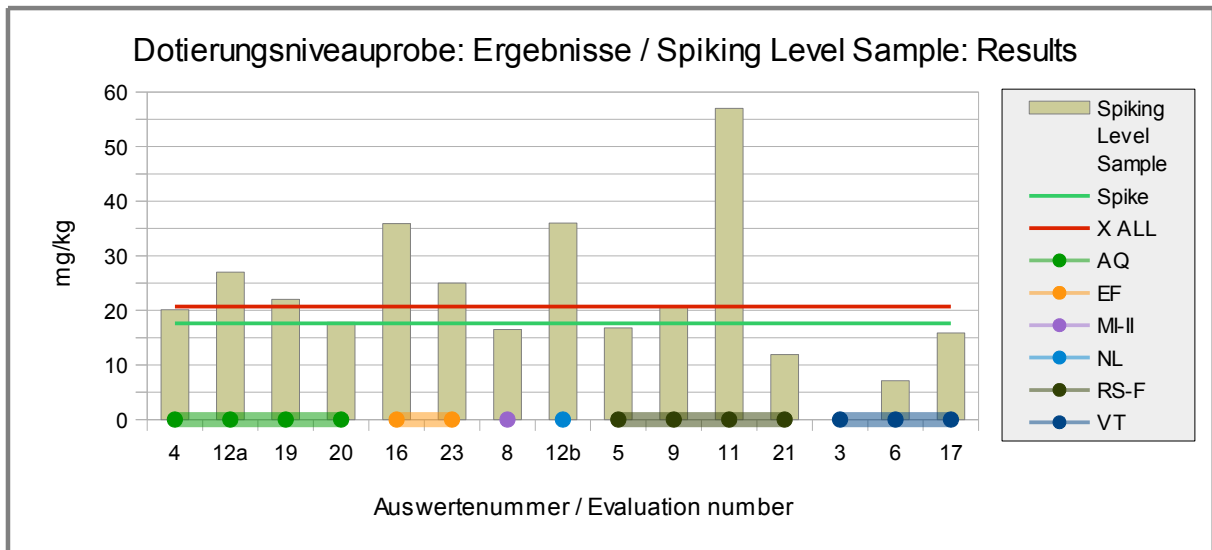


Abb./Fig. 22: ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

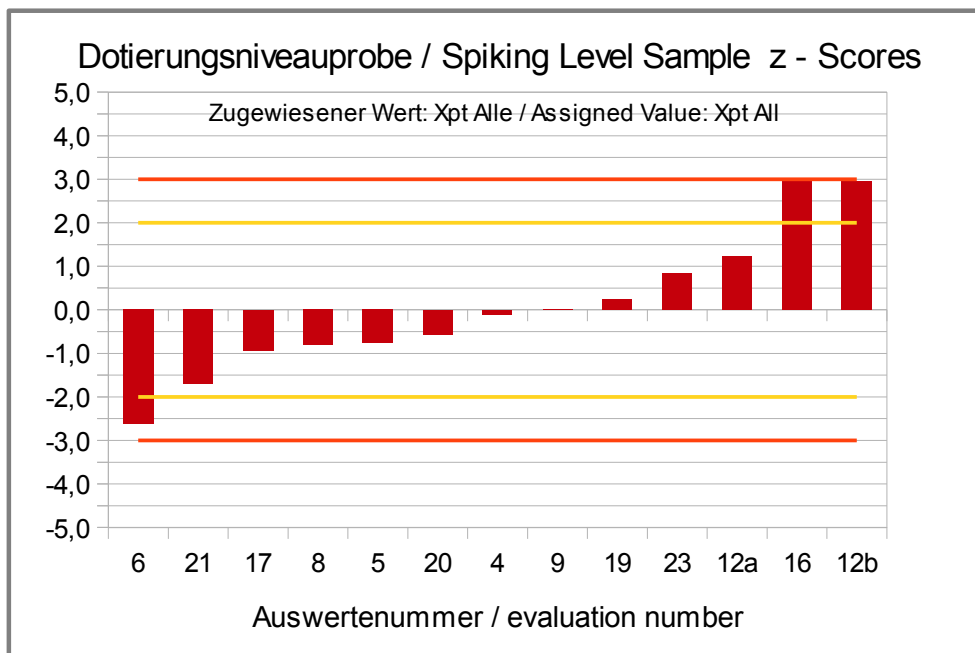


Abb./Fig. 23: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
4	20,1	114	19,2	44	AQ	Ergebnis umgerechnet °
12a	27,0	153	27,0	61	AQ	
19	22,0	125	16,9	38	AQ	
20	17,8	101	20,0	45	AQ	
16	35,9	204	21,7	49	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
23	25,0	142	25,0	57	EF	Summe β-Lactoglobulin + Casein
8	16,5	94	54,5	124	MI-II	
12b	36,0	205	26,0	59	NL	
5	16,8	95	55,7	127	RS-F	
9	20,7	117	67,9	154	RS-F	
11	57,0	324	109	248	RS-F	
21	11,9	68	47,9	109	RS-F	
3			>25.0		VT	
6	7,13	41	33,3	76	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	15,8	90	38,6	88	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	9	Anzahl im AB	8
Prozent im AB	64	Prozent im AB	57

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

64% (9) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 57% (8) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

Zur Berechnung der Sollwerte für Probe A:

Probe A enthält neben dem Zusatz von Magermilchpulver (s. S. 5) zusätzlich Gesamt-Milchprotein bzw. Casein aus der Matrix Bratensaucenpulver. Für die Berechnung der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse wurden daher die durchschnittlichen Gehalte an Gesamt-Milchprotein und Casein von Probe B berücksichtigt. Die Ergebnisse für Probe B wurden als 100% Gehalt in der Matrix gesetzt, der zugesetzte Gehalt zu Probe A entspricht dann ca. weiteren 41%. Daraus ergeben sich in der Summe nachstehende Sollwerte die für die Berechnung der Wiederfindungsrate für Probe A herangezogen wurden: Gesamt-Milchprotein 44,0 mg/kg und Casein 34,4 mg/kg.

4.1.3 PCR-Ergebnisse: Milch

Es wurden keine PCR-Ergebnisse für den Parameter Milch abgegeben.

4.2 Vergleichsuntersuchung Soja

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein)

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]			
14	positiv	16,5	negativ		2/2 (100%)	AT	Ergebnis umgerechnet °
15	positiv	12,0	negativ	<0,9	2/2 (100%)	BC	
7	positiv	57,9	negativ	0	2/2 (100%)	BF	
8	positiv	34,3	negativ	<0,31	2/2 (100%)	MI-II	
18	positiv	33,0	negativ	<0,31	2/2 (100%)	MI-II	
3	positiv	26,5	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
6	positiv	> 20	negativ	< 2,5	2/2 (100%)	RS-F	
9a	positiv	11,6	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	positiv	>20	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv	32,0	negativ	0	2/2 (100%)	RS-F	
12	positiv	34,0	negativ	< 0,31	2/2 (100%)	RS-F	
13	positiv	82,7	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
21	negativ	< 2,5	positiv	142	0/2 (0%)	RS-F	
24	positiv	33,0	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
9b	positiv	21,1	negativ	<1,8	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	14	1
Anzahl negativ	1	14
Prozent positiv	93	7
Prozent negativ	7	93
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

AT = AlerTox ELISA, Biomedal
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Ein Teilnehmer hat ein positives Ergebnis für Probe B sowie ein negatives Ergebnis für Probe A erhalten.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Soja-protein [mg/kg]	z'-Score X _{pt} ^{ALL}	Methode	Hinweis
14	16,5	-1,4	AT	Ergebnis umgerechnet °
15	12,0	-1,9	BC	
7	57,9	2,9	BF	
8	34,3	0,4	MI-II	
18	33,0	0,3	MI-II	
3	26,5	-0,4	RS-F	
6	> 20		RS-F	
9a	11,6	-2,0	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	> 20		RS-F	
11	32,0	0,2	RS-F	
12	34,0	0,4	RS-F	
13	82,7	5,6	RS-F	
21	< 2,5		RS-F	
24	33,0	0,3	RS-F	
9b	21,1	-1,0	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AT = AlerTox ELISA, Biomedal
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

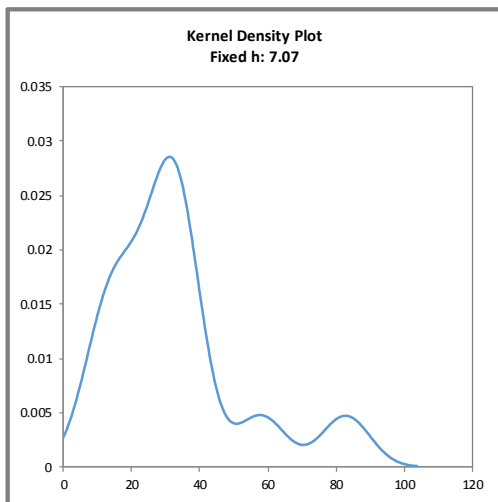


Abb. / Fig. 24:

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 etwa 12 mg/kg und zwei Nebenpeaks bei ca. 60 mg/kg und 85 mg/kg, die auf Einzelwerte zurückzuführen sind.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja (als Sojaprotein)

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	12
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	32,9
Median	32,5
Robuster Mittelwert (X_{pt})	30,1
Robuste Standardabweichung (S^*)	15,7
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	9,43
Untere Grenze des Zielbereichs	11,3
Obere Grenze des Zielbereichs	49,0
Quotient S^*/σ_{pt}'	1,7
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,67
Ergebnisse im Zielbereich	10
Prozent im Zielbereich	83

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen Methoden-abhängigen Unterschiede.

Aufgrund der relativ breiten Verteilung der Ergebnisse der unterschiedlichen ELISA-Methoden wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann bei 1,7. Die robuste Standardabweichung liegt im oberen 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 Methoden-übergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Aufgrund der geringen Anzahl und Verteilung der Ergebnisse wurde keine separate Auswertung für die Methode RS-F vorgenommen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 81% vom Zusatzniveau von Sojaprotein zu Probe A, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sojaprotein" S.60).

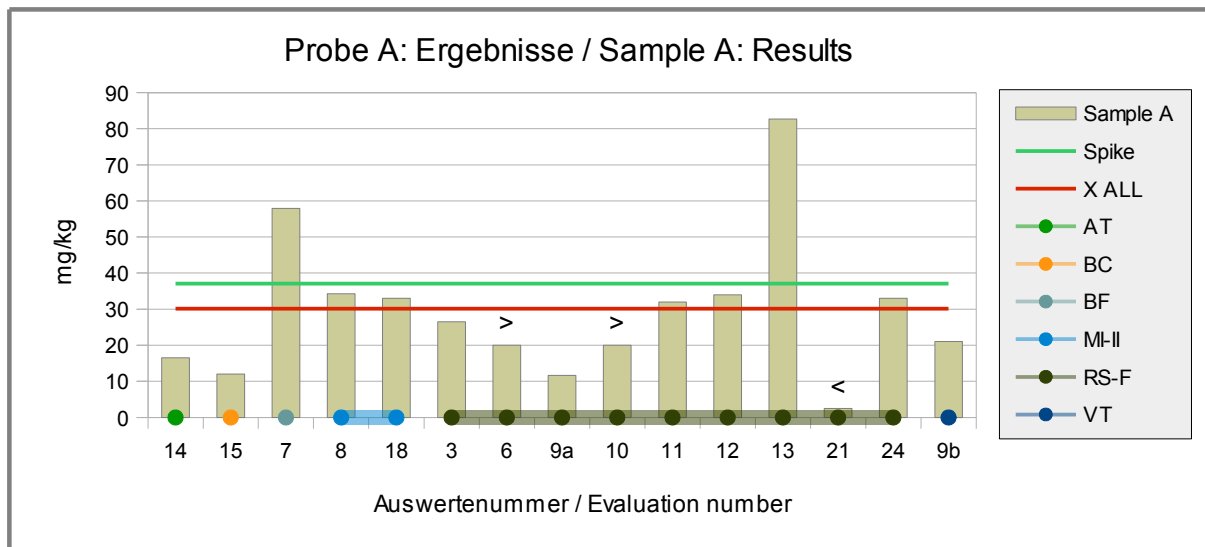


Abb./Fig. 25: ELISA-Ergebnisse Soja (als Sojaprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

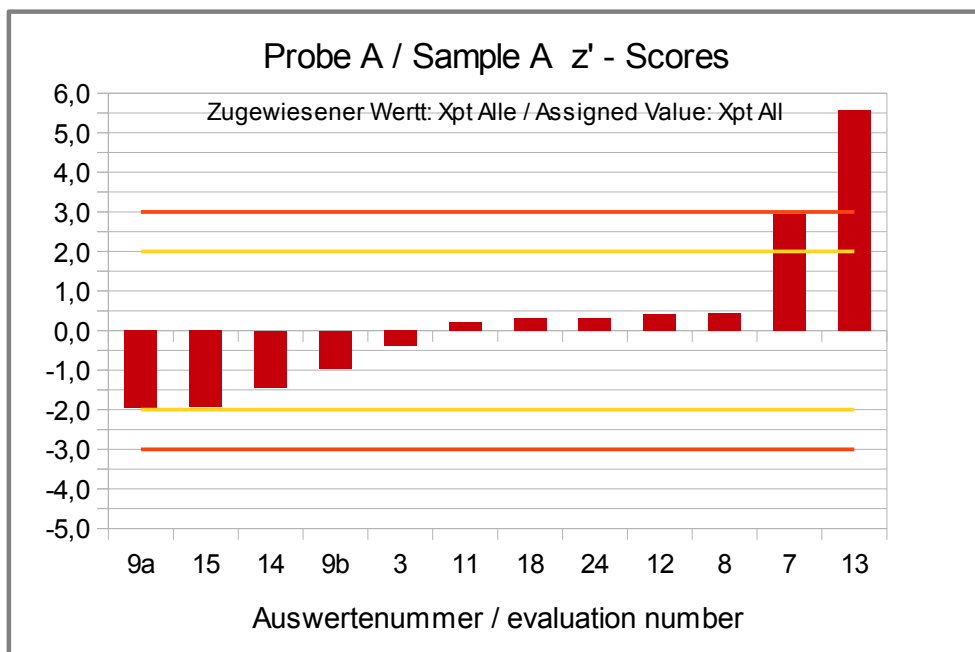


Abb./Fig. 26: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Sojaprotein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
14	30,0	-0,9	AT	Ergebnis umgerechnet °
15	15,7	-1,8	BC	
7	79,5	2,2	BF	
8	40,9	-0,2	MI-II	
18	28,0	-1,0	MI-II	
3			RS-F	
6			RS-F	
9a	13,8	-1,9	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	>20		RS-F	
11	36,0	-0,5	RS-F	
12	47,0	0,1	RS-F	
13	100	3,4	RS-F	
21	155	6,8	RS-F	
24	38,0	-0,4	RS-F	
9b	21,4	-1,4	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AT = AlerTox ELISA, Biomedal
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

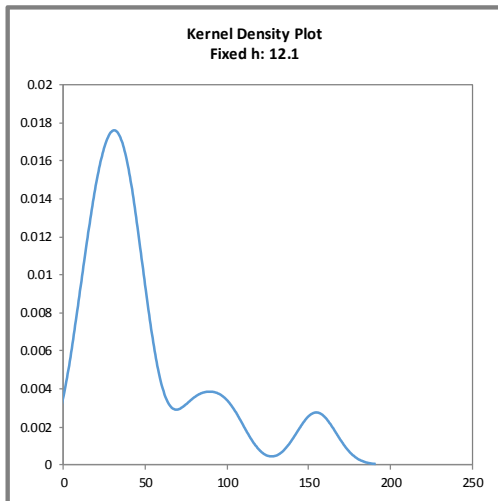


Abb. / Fig. 27:

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 mit einem Nebenpeak bei ca. 90 mg/kg und einem Nebenpeak bei 155 mg/kg, der auf einen Ausreißer zurückgeht (Methode RS-F).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja (als Sojaprotein)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	12
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	50,4
Median	37,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	44,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	32,1
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	16,1
Untere Grenze des Zielbereichs	12,5
Obere Grenze des Zielbereichs	76,8
Quotient S^*/σ_{pt}'	2,0
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	11,6
Ergebnisse im Zielbereich	9
Prozent im Zielbereich	75

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt}' von 2,9 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann bei 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im höheren 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.

Aufgrund der geringen Anzahl und Verteilung der Ergebnisse wurde keine separate Auswertung für die Methode RS-F vorgenommen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 120% vom Zusatzniveau von Sojaprotein zu Dotierungsniveauprobe, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sojaprotein" S.60).

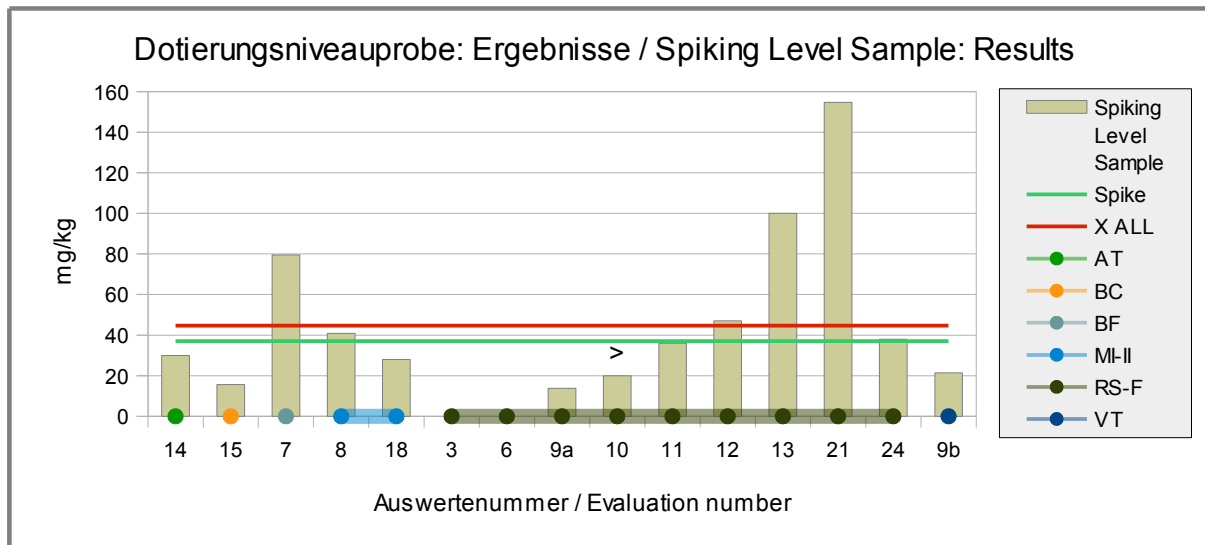


Abb./Fig. 28: ELISA-Ergebnisse Soja (als Sojaprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

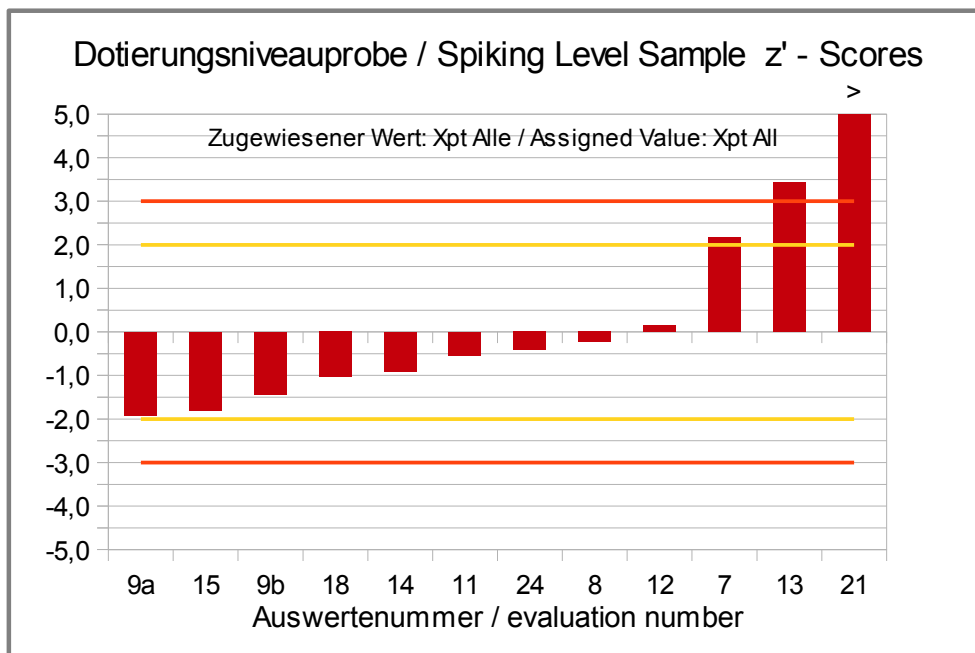


Abb./Fig. 29: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Sojaprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
14	30,0	81	16,5	45	AT	Ergebnis umgerechnet °
15	15,7	42	12,0	32	BC	
7	79,5	214	57,9	156	BF	
8	40,9	110	34,3	92	MI-II	
18	28,0	75	33,0	89	MI-II	
3			26,5	71	RS-F	
6			> 20		RS-F	
9a	13,8	37	11,6	31	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	>20		>20		RS-F	
11	36,0	97	32,0	86	RS-F	
12	47,0	127	34,0	92	RS-F	
13	100	270	82,7	223	RS-F	
21	155	417	<2,5		RS-F	
24	38,0	102	33,0	89	RS-F	
9b	21,4	58	21,1	57	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	7	Anzahl im AB	7
Prozent im AB	58	Prozent im AB	58

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AT = AlerTox ELISA, Biomedal

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

58% (7) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe und mit der prozessierten dotierten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Soja als Soja Typsin Inhibitor

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
1	positiv	0,700	negativ	<LOD	2/2 (100%)	AQ	
19	positiv	0,700	negativ	<LOD	2/2 (100%)	AQ	
20	positiv	0,780	negativ	< LOD	2/2 (100%)	AQ	
16	positiv	0,711	negativ	< 0,04	2/2 (100%)	EF	
23	positiv	0,830	negativ	< 0,016	2/2 (100%)	EF	
5	positiv	0,890	negativ	<LOQ	2/2 (100%)	IL	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	0
Anzahl negativ	0	6
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Soja Trypsin Inhibitor	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
1	0,700	-0,4	AQ	
19	0,700	-0,4	AQ	
20	0,780	0,1	AQ	
16	0,711	-0,3	EF	
23	0,830	0,3	EF	
5	0,890	0,6	IL	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl von < 8 Ergebnissen nicht vorgenommen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja als Soja Trypsin Inhibitor

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	6
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	0,769
Median	0,746
Robuster Mittelwert (X_{pt})	0,769
Robuste Standardabweichung (S^*)	0,0898
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	0,192
Untere Grenze des Zielbereichs	0,384
Obere Grenze des Zielbereichs	1,15
Quotient S^*/σ_{pt}	0,47
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,0458
Ergebnisse im Zielbereich	6
Prozent im Zielbereich	100

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 1,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die 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 Methoden-übergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 14% vom berechneten Zusatzniveau von Soja Trypsin Inhibitor zu Probe A, vorbehaltlich der u.a. Anmerkung, deutlich unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Soja Trypsin Inhibitor" S.68).

Anmerkung: Laut Testkit-Anleitungen ist für die Umrechnung der Soja Trypsin Inhibitor Ergebnisse ein Umrechnungsfaktor von 42 für ungetoastetes Sojamehl und ein Umrechnungsfaktor von 470 für getoastetes Sojamehl zu verwenden. Für Sojamehl ergeben sich dann 32,3 mg/kg bzw. 361 mg/kg mit Wiederfindungsraten von 33% bzw. 370%. Das in der vorliegenden LVU eingesetzte Sojamehl ist eine Mischung aus getoasteten Sojabohnen, die eine Restaktivität des Soja Trypsin Inhibitors aufweist.

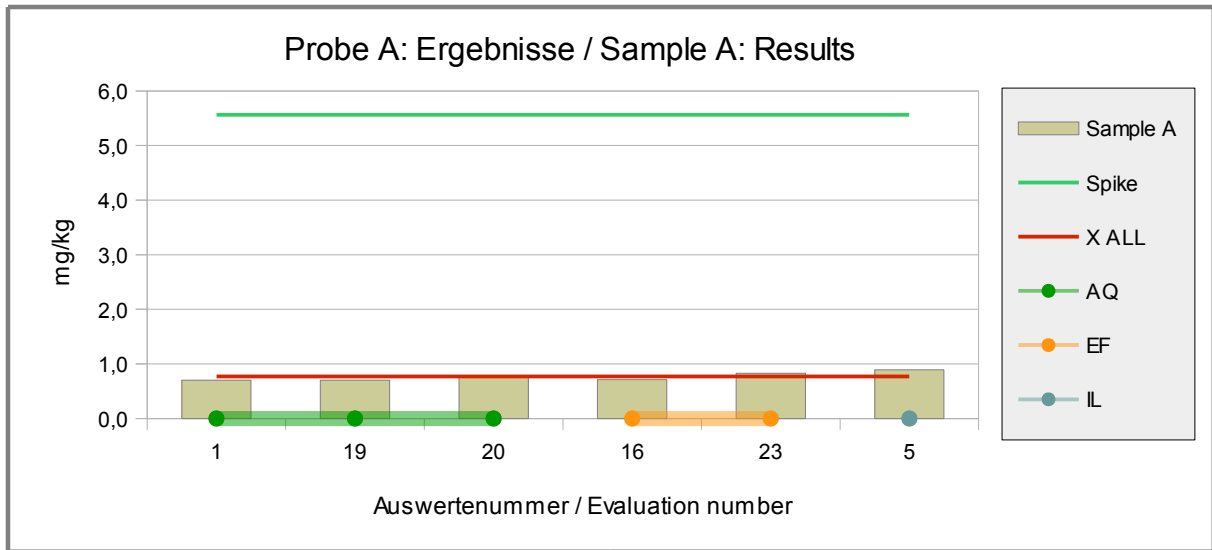


Abb./Fig. 30: ELISA-Ergebnisse als Soja Trypsin Inhibitor
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

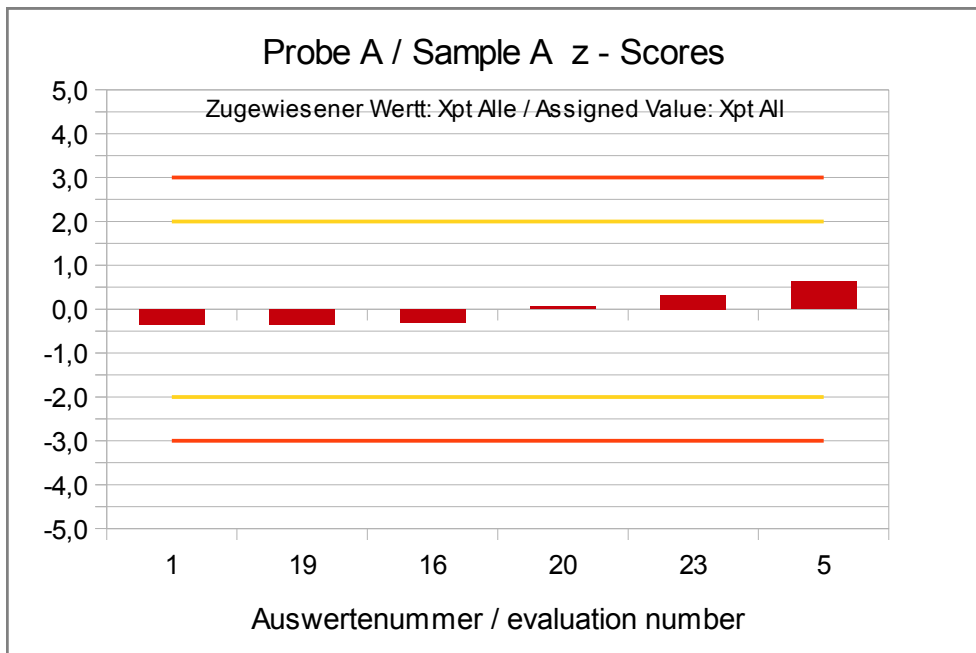


Abb./Fig. 31: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Soja Trypsin Inhibitor) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Soja Trypsin Inhibitor	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
1	0,800	-0,7	AQ	
19	0,870	-0,4	AQ	
20	1,18	0,9	AQ	
16	1,12	0,6	EF	
23	0,850	-0,5	EF	
5	1,00	0,1	IL	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl von < 8 Ergebnissen nicht vorgenommen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja als Soja Trypsin Inhibitor

Dotierungsniveauprobe

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}
Anzahl der Messergebnisse	6
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	0,970
Median	0,935
Robuster Mittelwert (X_{pt})	0,970
Robuste Standardabweichung (S^*)	0,176
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	0,243
Untere Grenze des Zielbereichs	0,485
Obere Grenze des Zielbereichs	1,46
Quotient S^*/σ_{pt}	0,73
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,0899
Ergebnisse im Zielbereich	6
Prozent im Zielbereich	100

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

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

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 17% vom Zusatzniveau von Soja Trypsin Inhibitor zu Dotierungsniveauprobe, vorbehaltlich der u.a. Anmerkung, deutlich unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Soja Trypsin Inhibitor" S.68).

Anmerkung: Laut Testkit-Anleitungen ist für die Umrechnung der Soja Trypsin Inhibitor Ergebnisse ein Umrechnungsfaktor von 42 für ungetoastetes Sojamehl und ein Umrechnungsfaktor von 470 für getoastetes Sojamehl zu verwenden. Für Sojamehl ergeben sich dann 40,7 mg/kg bzw. 456 mg/kg mit Wiederfindungsraten von 42% bzw. 465%. Das in der vorliegenden LVU eingesetzte Sojamehl ist eine Mischung aus getoasteten Sojabohnen, die eine Restaktivität des Soja Trypsin Inhibitors aufweist.

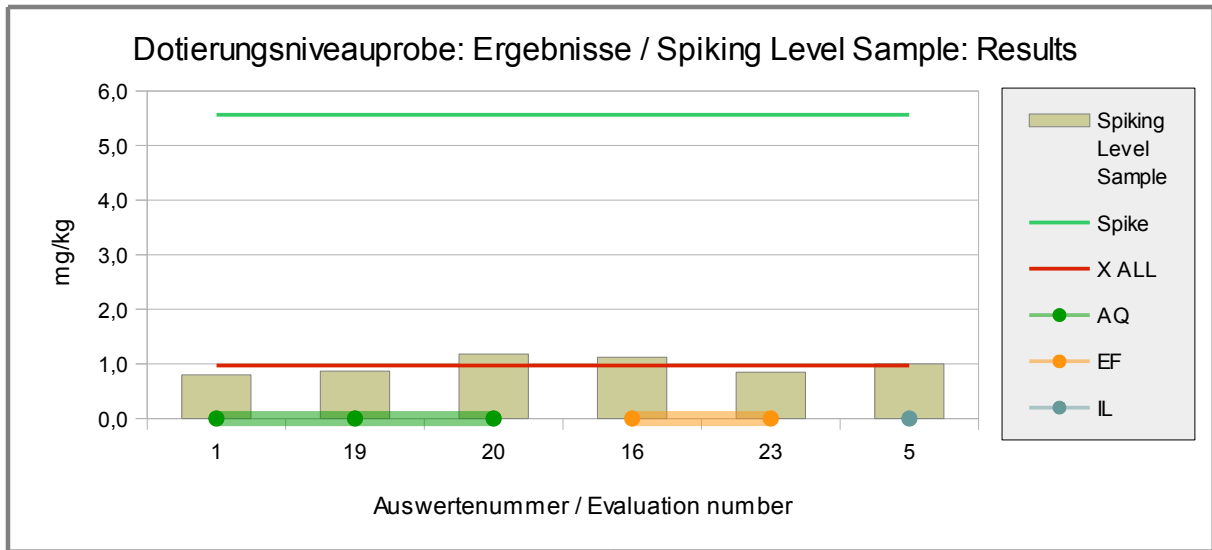


Abb./Fig. 32: ELISA-Ergebnisse Soja als Soja Trypsin Inhibitor
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

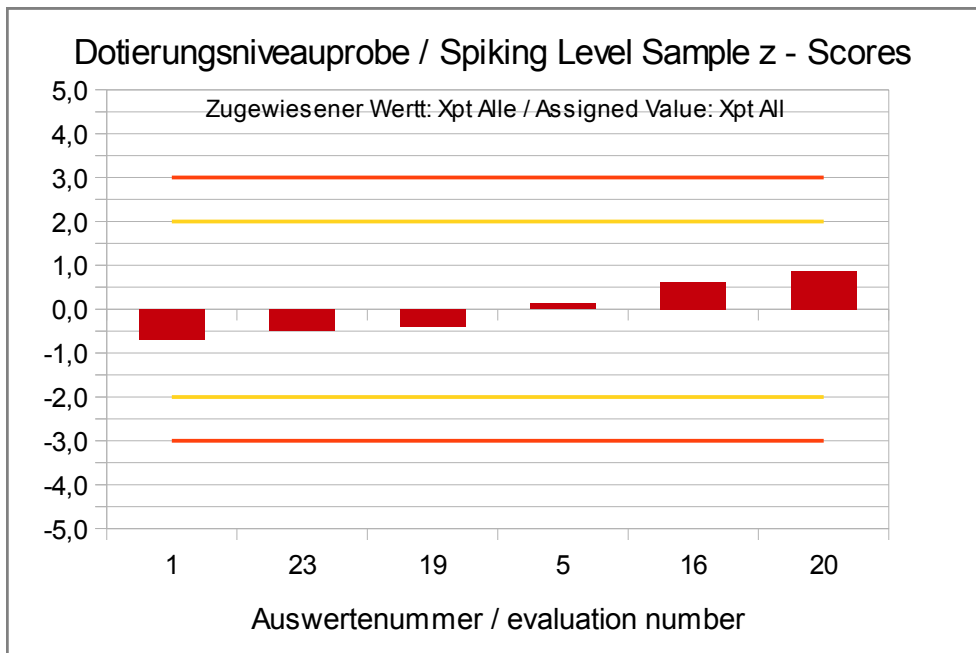


Abb./Fig. 33: z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Soja Trypsin Inhibitor) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten ELISA für Soja Trypsin Inhibitor:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
1	0,800	14	0,700	13	AQ	
19	0,870	16	0,700	13	AQ	
20	1,18	21	0,780	14	AQ	
16	1,12	20	0,711	13	EF	
23	0,850	15	0,830	15	EF	
5	1,00	18	0,890	16	IL	

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

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Soja Trypsin Inhibitor s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für die Ergebnisangabe als Soja Trypsin Inhibitor liegen alle Wiederfindungsraten sowohl für die Dotierungsniveauprobe als auch die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A deutlich unterhalb des Bereichs der AOAC-Anforderung von 50-150%. Laut Testkit-Anleitungen der ELISA-Methoden AQ, EF und IL ist für die Umrechnung der Soja Trypsin Inhibitor Ergebnisse ein Umrechnungsfaktor von 42 für ungetoastetes Sojamehl und ein Umrechnungsfaktor von 470 für getoastetes Sojamehl zu verwenden. Je nachdem welcher Faktor verwendet wird ergeben sich dann für die Dotierungsniveauprobe mittlere Wiederfindungsraten von 42% bzw. 465% und für die Lebensmittelmatrix-Probe A von 33% bzw. 370%. Das in der vorliegenden LVU eingesetzte Sojamehl ist eine Mischung aus getoasteten Sojabohnen, die eine Restaktivität des Soja Trypsin Inhibitors aufweist.

4.2.3 PCR-Ergebnisse: Soja

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		
4	positiv	85,0	negativ		2/2 (100%)	ASU	
17	positiv	70,0	negativ		2/2 (100%)	ASU	
2	positiv		negativ		2/2 (100%)	FP	als Soja-DNA angegeben
22	positiv		negativ		2/2 (100%)	GI	
9	positiv	61,7	negativ	< 1	2/2 (100%)	SFA	
16	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
10	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
6	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
12	positiv	33,0	negativ	< 10	2/2 (100%)	div	als Soja-DNA angegeben
18a	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
18b	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	

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

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GI = GEN-IAL First Allergen
 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 A.

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

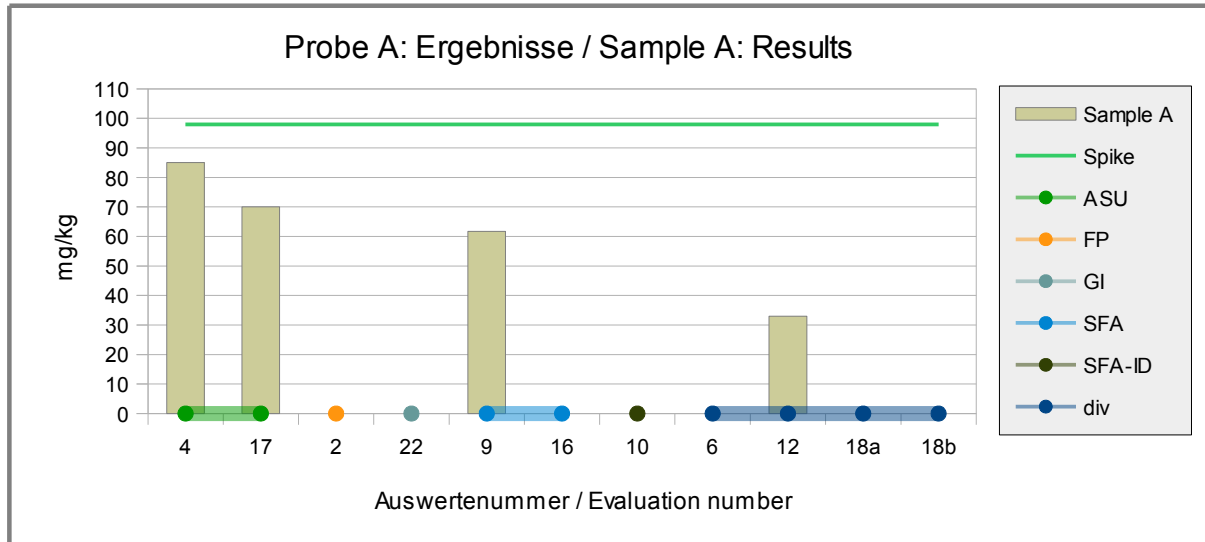


Abb./Fig. 34: PCR-Ergebnisse Soja
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

(Quantitative) Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Soja pos/neg	Soja [mg/kg]	z-Score X _{pt} _{ALL}	Methode	Hinweis
4	positiv	42,0		ASU	
17	positiv	92,0		ASU	
2	positiv	277		FP	als Soja-DNA angegeben
22				GI	
9	positiv	62,1		SFA	
16	positiv			SFA	
10	positiv			SFA-ID	
6	positiv			div	
12	positiv	53,0		div	als Soja-DNA angegeben
18a	positiv			div	
18b	positiv			div	

Anzahl positiv	10	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

GI = GEN-IAL First Allergen

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:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

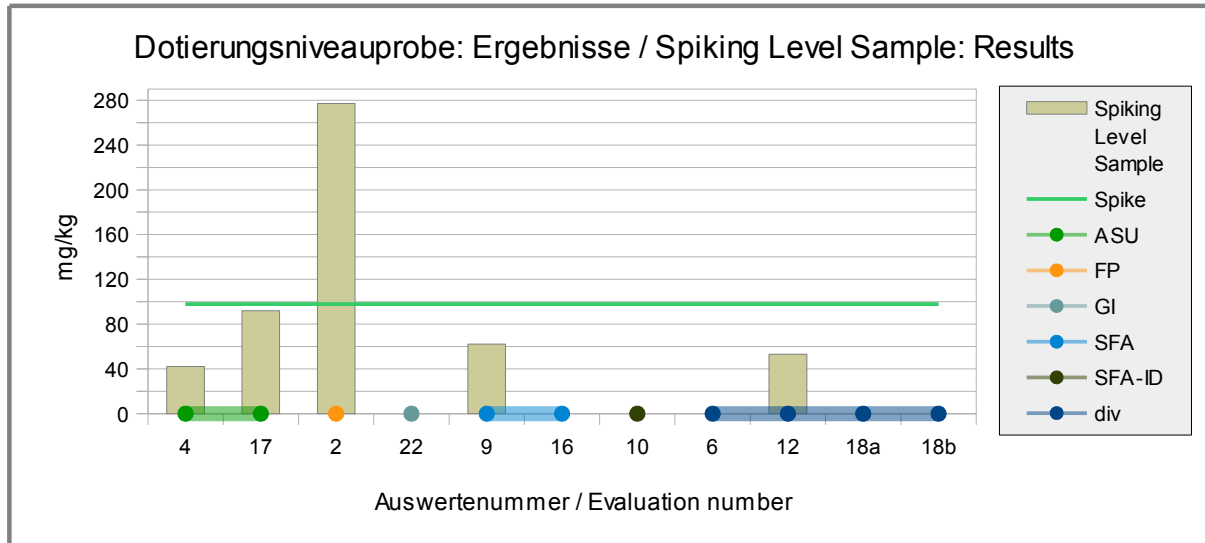


Abb./Fig. 35: PCR-Ergebnisse Soja
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe A	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
4	42,0	43	85,0	87	ASU	
17	92,0	94	70,0	71	ASU	
2	277				FP	Ergebnis als Soja-DNA angegeben (WF als Sojamehl wäre 280%)
22					GI	
9	62,1	63	61,7	63	SFA	
16					SFA	
10					SFA-ID	
6					div	
12	53,0		33,0		div	Ergebnisse als Soja-DNA angegeben (WF als Sojamehl wäre 54% und 34%)
18a					div	
18b					div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	2	Anzahl im AB	3
Prozent im AB	67	Prozent im AB	100

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Sojamehl/Sojabohne, 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

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:

Für die Dotierungsniveauprobe lagen die Wiederfindungsraten mittels PCR zwischen 43% und 94%, davon 2 im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150%. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 3 der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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: Casein

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
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%		ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	1	25.02.19	positiv	13,3	positiv	8,3	positiv	22,5	0,04	0,2	40	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	4	26.02.19	positiv	78,1	positiv	51,8	positiv	81	1,9	7	50	Magermilchpulver	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	6	06.03.19	positiv	12,3	positiv	8,71	positiv	16	0,2	0,2	40	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	15	21.02.19	-	10,2	-	6,6	-	11,6	0,2	0,2	50	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	19	06.02.19	positiv	18,8	positiv	14,6	positiv	23,4	0,04	0,2	40	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
BF	7	05.03.19	positiv	20,6	positiv	17,2	positiv	22,8	0,38	3		Milchproteine, gesamt	MonoTrace Milk (Casein) ELISA kit, BioFront Technologies
EF	16		-	18,5	-	14	-	22	0,04	0,2	30	Casein	SENSISpec ELISA Casein - Eurofins
IL	5	07.03.19	-	14,85	-	12,95	-	26,35	0,04	0,2		Casein	Immunolab Casein ELISA
MI	8	26.02.19	positiv	59,4	positiv	37,2	positiv	23,5		0,31	45,1	Milchproteine, gesamt	Morinaga Casein ELISA Kit
MI-II	18	31.01.19	positiv	42	positiv	35	positiv	17	0,31	0,31		Milchproteine, gesamt	Morinaga Casein ELISA Kit II M2113
NL	12	20.02.19	positiv	19	positiv	13	positiv	21	0,05	0,2	30	Casein	nutriLinia® Allergen-ELISA Casein-E NC-6031
RS-F	9	11.02.19	positiv	43,88	positiv	32,53	positiv	22,45	2,5	2,5	15,93	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	11	11-12 Februar	positiv	14	positiv	7,3	positiv	4,4	0,12	0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	24	03.06.19	positiv	35	positiv	25	positiv	18		2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Casein:

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	1	Casein	Extraktionspuffer/ 15 Minuten / 60°C	ja	
AQ	4		nach Herstellervorschrift	ja	Umrechnungsfaktor 3,6
AQ	6			ja	
AQ	15	polyclonal	0.5g Probe PBS-Puffer Extraktion bei 60°C		
AQ	19	Casein	w ässriger Puffer/15 Minuten/60 Grad Celsius	ja	
BF	7	Monoclonal Antikörper-basiertes Kit	1:10 Extraktionsverhältnis/10 Minuten/60°C	nein	
EF	16			ja	
IL	5			nein	
MI	8	Casein	Morinaga Casein ELISA Kit II	ja	Extraktion 100°C 10 min
MI-II	18	erkennt Kuhmilchcasein	lt. Herstellerangaben	ja	Casein mg/kg Probe A: 34, Probe B: 28, Dotierungsniveauprobe: 14
NL	12		laut Manual	ja	
RS-F	9	nach Kit-Anleitung	nach Kit-Anleitung	ja	
RS-F	11			ja	
RS-F	24				

5.1.2 ELISA: Milchprotein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	4	28.02.19	positiv	58,3	positiv	33,5	positiv	61	2,5		50	Magermilchpulver	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs
AQ	12a	20.02.19	positiv	27	positiv	16	positiv	27	0,05	0,4	30	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448 von RomerLabs
AQ	19	05.02.19	positiv	16,9	positiv	12,9	positiv	22	0,05	0,4	35	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs
AQ	20	30.01.19	positiv	20	positiv	15,1	positiv	17,8	0,05	0,4	35	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs
EF	16		-	21,7	-	10,8	-	35,9	0,05	0,4	30	Milchproteine, gesamt	SENSISpec ELISA Total Milk - Eurofins
EF	23	04.02.19	positiv	25	positiv	15	positiv	25	0,05	0,4		Casein + BLG	SensiSpec Milk ELISA
MI-II	8	26.02.19	positiv	54,5	positiv	26,6	positiv	16,5		0,31	50,6	Milchproteine, gesamt	Morinaga BLG ELISA Kit II
NL	12b	25.02.19	positiv	26	positiv	16	positiv	36	0,05	0,5	30	Milchproteine, gesamt	nutriLinia® Allergen-ELISA Milch-E / Milk-E NC-6033
RS-F	5	22.02.19		55,7	-	37,94	-	16,78	0,7	2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	9	11.02.19	positiv	67,86	positiv	42,25	positiv	20,67	2,5	2,5	24,55	Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	11	11-12 Februar	positiv	109	positiv	60	positiv	57	0,7	2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	21	18.02.19	-	47,9	-	32,5	-	11,9	0,7	2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
VT	3	07.03.19	positiv	>25.0	positiv	>25.0	-		0,24	43587	25	Milk proteins, total	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	6	06.02.19	positiv	101	positiv	58	positiv	21,6	2,5	2,5		Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	17	08.02.19	positiv	117	positiv	98	positiv	48	2,5	5	50	Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

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	4		nach Herstellervorschrift	nein	Umrechnungsfaktor 2,7
AQ	12a		laut Manual	nein	
AQ	19	Milchproteine, gesamt	wässriger Puffer/15 Minuten/60 Grad Celsius	ja	
AQ	20	Milchproteine, gesamt	wässriger Puffer/15 Minuten/60 Grad Celsius	nein	
EF	16			ja	Summe von Casein und BLG
EF	23	BLG, Casein			
MI-II	8	β-Lactoglobulin		ja	Extraktion 100°C 10 min
NL	12b		laut Manual	ja	
RS-F	5			nein	keine Verdünnung
RS-F	9	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
RS-F	11			ja	
RS-F	21	nicht bekannt	gemäss Anleitung Kit	ja	nicht bekannt
VT	3		5g Probe / 125ml Extraktionslösung vom Kit / 15 min / 60 °C	ja	
VT	6			ja	Screening Methode (einfach Bestimmung)
VT	17				verringerte Einwage von 1g

5.1.3 ELISA: Sojaprotein

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
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%		ELISA Test-Kit + Anbieter
AT	14	28.02.19	positiv	43,75	negativ		positiv	79,24	7,6	23,75		Sojabohne	AlerTox Soy (STI) ELISA, Biomedal
BC	15	21.02.19	-	12	-	<0,9	-	15,7	0,9	0,9	50	Sojaprotein	BioCheck ELISA Soya-Check
BF	7	05.03.19	positiv	57,9	negativ	0	positiv	79,5	0,16	1		Sojaprotein	MonoTrace Soy ELISA kit, BioFront Technologies
MI-II	8	26.02.19	positiv	34,3	negativ	<0,31	negativ	40,9		0,31	45,2	Sojaprotein	Morinaga Soya ELISA Kit II
MI-II	18	31.01.19	positiv	33	negativ	<0,31	positiv	28	0,31	0,31		Sojaprotein	Morinaga Soya ELISA Kit II
RS-F	3	07.03.19	positiv	26,50	negativ	43587	-		0,24	43587	25	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	6	05.02.19	positiv	> 20	negativ	< 2,5	-		2,5			Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	9a	21.02.19	positiv	30,75	negativ	<2,5	positiv	36,55	2,5	2,5	29,35	Sojabohne	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	10	04.02.19	positiv	>20	negativ	<2,5	positiv	>20	1	2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	11	25.02-01.03	positiv	32	negativ	0	positiv	36	0,24	2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	12	21.02.19	positiv	34	negativ	< 0,31	positiv	47	0,31	2,5	30	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	13	05.03.19	positiv	82,7	negativ	<2,5	positiv	100	0,24	2,5	63,1	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	21	15.02.19	-	< 2,5	-	142,4	-	154,7	0,24	2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	24	03.07.19	positiv	33	negativ	<2,5	positiv	38		2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
VT	9b	13.02.19	positiv	44,8	negativ	<2,5	positiv	45,6	2,5	2,5	23,11	Sojamehl	Veratox Soy Allergen, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Sojaprotein:

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	
AT	14				
BC	15	polyclonal	0.5g Probe PBS-Puffer Extraktion bei 60°C		
BF	7	Monoclonal antibody-based kit	1:20 Extraktionsverhältnis/10 Minuten/Kochen	nein	
MI-II	8	Beta-conglycinin		ja	Extraktion 100°C 10 min
MI-II	18	erkennt Sojaproteine	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	3		1 g Probe / 2,5 ml Extractor 3 + 17.5 ml Extraktionspuffer (60 °C) / 10 min. / 100 °C	ja	
RS-F	6			ja	
RS-F	9a	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
RS-F	10				
RS-F	11			ja	
RS-F	12		laut Manual	ja	
RS-F	13		Probenvorbereitung und Testdurchführung wird wie im Testkit enthaltene Anleitung durchgeführt	ja	
RS-F	21	nicht bekannt	gemäss Anleitung Kit	ja	Kreuzreaktivität mit Leguminosen, Erbsen und Erdnüssen
RS-F	24				
VT	9b	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	

5.1.4 ELISA: Soja Trypsin Inhibitor

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	1	19.02.19	positiv	0,7	negativ	<LOD	positiv	0,8	0,016	0,04	35	Soja Trypsin Inhibitor	AgraQuant ELISA Soy COKAL0448, RomerLabs
AQ	19	08.02.19	positiv	0,7	negativ	<LOD	positiv	0,87	0,016	0,04	35	Soja Trypsin Inhibitor	AgraQuant ELISA Soy COKAL0448, RomerLabs
AQ	20	07.02.19	positiv	0,78	negativ	< LOD	positiv	1,18	0,016	0,04	35	Soja Trypsin Inhibitor	AgraQuant ELISA Soy COKAL0448, RomerLabs
EF	16		-	0,711	-	< 0.04	-	1,12	0,016	0,04	30	Soja Trypsin Inhibitor	SENSISpec ELISA Soya - Eurofins
EF	23	04.02.19	positiv	830 ppb	negativ	< 16 ppb	positiv	850 ppb	16 ppb	40 ppb		Soja Trypsin Inhibitor	SensiSpec Soy ELISA
IL	5	19.02.19	-	37,2	negativ	<LOQ	-	41,82	0,7	1,7		Sojamehl	Immunolab Soy ELISA
IL	5	19.02.19	-	890 ppb	negativ	<LOQ	-	1000 ppb				Soja Trypsin Inhibitor	Immunolab Soy ELISA

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

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	1	STI - Soja Trypsin Inhibitor	Extraktionspuffer/ 15 Minuten / 60°C	ja	
AQ	19	STI - Soja Trypsin Inhibitor	wässriger Puffer/15 Minuten/60 Grad Celsius	ja	
AQ	20	STI - Soja Trypsin Inhibitor	wässriger Puffer/15 Minuten/60 Grad Celsius	no	
EF	16			ja	
EF	23	STI			
IL	5			nein	Verdünnung 1:5
IL	5			nein	Verdünnung 1:5

5.1.5 PCR: Soja

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg					
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	PCR Test-Kit + Anbieter
ASU	4	21.02.19	positiv	85	negativ		positiv	42	10	20	50	Sojamehl	ASU §64 Methode/method
ASU	17	11.02.19	positiv	70	negativ		positiv	92	5	10	50	Sojamehl	ASU §64 Methode/method
FP	2		positiv		negativ		positiv	277,08				Soja-DNA	foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
GI	22		positiv		negativ		-		10	< 100 mg/kg		Bitte auswählen!	GEN-IAL First Allergen, Romerlabs Deutschland
SFA	9	05.03.19	positiv	61,74	negativ	<1	positiv	62,14	1	1	39,2	Sojabohne	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	16		positiv		negativ		positiv		0,4			Soja-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	10	06.02.19	positiv		negativ		positiv		0,4			Soja-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	6	18.02.19	positiv		negativ		positiv					Soja-DNA	DIN EN ISO 21570, Anhang C2, Ausgabe August 2013, modifiziert
div	12	01.03.19	positiv	33	negativ	< 10	positiv	53	10 Kopien	30 Kopien	40	Soja-DNA	andere: bitte eingeben!
div	18a	01.02.19	positiv		negativ		positiv		40			Soja-DNA	interne Methode
div	18b	01.02.19	positiv		negativ		positiv		4-10			Soja-DNA	interne Methode

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

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	4	Soja-Lectin-Gen	Automatisierte Extraktion (Maxwell RSC), 45 Zyklen	ja	
ASU	17	Lectin-Gen, 81 bp	Extraktion: CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22 Bestimmung: ASU L 08.00-59 : 2013-01	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Sojamehl.
FP	2		real time PCR	nein	
GI	22	Sojalektin		ja	100 mg/Kg ist LOQ
SFA	9	Nach Kit-Anleitung	CONGEN SureFood Advanced Prep Kit	ja	Kit S6301
SFA	16			ja	
SFA-ID	10				
div	6	74 bp Soja-Lektin 1 Gen	MericonFood Kit (Qiagen)	ja	
div	12	Lectin		ja, Hausmethode	
div	18a		CTAB / Proteinase K / Promega Wizard DNA CleanUp / Realtime PCR 45 Zyklen	ja	
div	18b		CTAB / Proteinase K / Promega Wizard DNA CleanUp / Realtime PCR 45 Zyklen	ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 01-2019 Probe A

Gewicht Gesamtprobe	4,02	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,5	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,05	39	15,4
2	5,06	44	17,4
3	4,98	45	18,1
4	5,00	50	20,0
5	5,01	43	17,2
6	5,03	46	18,3
7	5,00	40	16,0
8	5,01	52	20,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	44,9	Partikel
Standardabweichung	4,57	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,25	
Wahrscheinlichkeit	86	%
Wiederfindungsrate	80	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	17,9	mg/kg
Standardabweichung	1,82	mg/kg
rel. Standardabweichung	10,2	%
Horwitz Standardabweichung	10,4	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	80	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA 01-2019 Dotierungsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,44	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,4	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	57	22,8
2	5,00	54	21,6
3	4,97	59	23,7
4	5,09	63	24,8
5	5,06	58	22,9
6	5,02	66	26,3
7	5,06	67	26,5
8	5,09	49	19,3

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	59,1	Partikel
Standardabweichung	6,08	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,38	
Wahrscheinlichkeit	74	%
Wiederfindungsrate	105	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	23,5	mg/kg
Standardabweichung	2,41	mg/kg
rel. Standardabweichung	10,3	%
Horwitz Standardabweichung	9,9	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	105	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 01-2019
EP-Name	Allergene I: Milch (Casein) und Soja in Saucenpulver
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Instant-Saucenpulver/ Zutaten: Maltodextrin, Stärke, modifizierte Stärke, jodiertes Salz, Weizenmehl, Zucker, Aromen, Hefeextrakt, Zwiebeln, Gewürze, Karamell, Tomatenpulver, Maiskeimöl, Malzextrakt, Säureregulatoren: Natriumdiacetat, Calciumlactat, Säuerungsmittel: Citronensäure, Milchsäure, Thymian. weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A + B: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C) Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Magermilchpulver (Milchprotein, Casein, DNA), Sojamehl (Sojaprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die Gesamtmenge 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 08. März 2019
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
		USA
		CANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SPANIEN
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ
		SPANIEN
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		ÖSTERREICH
		ÖSTERREICH
		USA
		KROATIEN
		SLOWAKEI
		GRIECHENLAND

[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 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]
33. 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]
34. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (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]
35. 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]
36. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (Bos domesticus), Be-

- slers M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, <http://www.food-allergens.de>
37. Allergen Data Collection - Update (2002): Soybean (Glycine max), Besler M., Helm R.M., Ogawa T., Internet Symposium on Food Allergens 2 (Suppl.3): 1-35 (2000) <http://www.food-allergens.de>

DLA 01/2019 - Allergene I

Alle 24 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Milch (Milchprotein, Casein) und Soja (Sojaprotein, Soja Trypsin Inhibitor) für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und PCR-Methoden (Soja, qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

12 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Griechenland, Großbritannien, Italien, Kroatien, Österreich, Schweiz, Slowakei, Spanien), ein Teilnehmer in Kanada und zwei in den USA.