



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 44/2019

Tierarten-Screening II:

**Esel, Rind, Pferd, Huhn und Pute in
Fleischprodukt (Schwein)**

DLA - Proficiency Tests GmbH

Kalte Weide 21

24641 Sievershütten/Germany

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

Koordinator der LVU:

Alexandra Scharf MSc.

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p>DLA - Proficiency Tests GmbH Kalte Weide 21, 24641 Sievershütten, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 44/2019
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Alexandra Scharf MSc.
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (17. Februar 2020) Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>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. Februar 2020</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>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.</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	5
2.1.2 Stabilität.....	6
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Qualitative Auswertung.....	7
3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer.....	7
3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben.....	7
4. Ergebnisse.....	8
4.1 Vergleichsuntersuchung Geflügelfleisch.....	9
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Geflügel.....	9
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Geflügel	10
4.2 Vergleichsuntersuchung Pferdefleisch.....	12
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Pferd.....	12
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Pferd.....	13
4.3 Vergleichsuntersuchung Rindfleisch.....	14
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Rind.....	14
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Rind.....	15
4.4 Vergleichsuntersuchung Eselfleisch.....	16
4.4.1 ELISA-Ergebnisse: Esel.....	16
4.4.2 PCR-Ergebnisse: Esel.....	16
4.5 Vergleichsuntersuchung Schweinefleisch.....	17
4.5.1 ELISA-Ergebnisse: Schwein.....	17
4.5.2 PCR-Ergebnisse: Schwein.....	18
5. Dokumentation.....	19
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	19
5.1.1 ELISA: Geflügel.....	19
5.1.2 ELISA: Pferd.....	20
5.1.3 ELISA: Rind.....	20
5.1.4 ELISA: Esel.....	20
5.1.5 ELISA: Schwein.....	21
5.1.8 PCR: Geflügel	22
5.1.9 PCR: Pferd.....	24
5.1.10 PCR: Rind.....	25
5.1.11 PCR: Esel.....	26
5.1.12 PCR: Schwein.....	27
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	28
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	29
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	30

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

Es wurden 4 unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an erhitzten, tierischen Lebensmitteln von Esel, Rind, Pferd, Huhn und Pute zur qualitativen Bestimmung zur Verfügung gestellt. Die Parameter lagen in der Matrix erhitztes Fleischprodukt (Basis Schwein) mit Gehalten von 1 - 10% vor.

Die Rohstoffe für die verwendeten Tierarten waren handelsübliche Fleischwaren. Die entsprechenden, mengenmäßigen Anteile der Fleischarten für die jeweilige Probe (s. Tab. 2) wurden zerkleinert. Mittels eines Fleischkutters und unter Zugabe von weiteren Zutaten (s. Tab. 1) wurde ein Wurstbrät daraus hergestellt. Das Wurstbrät wurde nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 25 g in Kunststoffbehälter abgefüllt und anschließend für eine Stunde bei 100 °C im Wasserbad erhitzt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Proben 1 - 4
Wasser	26 - 29 %
Natriumchlorid	0,3 - 0,4 %
Natriumcitrat*2H ₂ O	0,3 - 0,4 %
Schweinegelatine (100% Schwein)*	3,4 - 3,8 %
Fleischanteil gesamt	69 - 74 %

*Probe 1 wurde keine Gelatine zugesetzt

Tabelle 2: Gehalte (in %) der jeweiligen Tierarten in den Wurstbrät Proben 1-4.

Zutaten*	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Schweinefleisch	positiv (69%)	positiv (65%)	positiv (62%)	positiv (64%)
Pferdefleisch	positiv (4,9%)	negativ	negativ	negativ
Eselfleisch (getrocknet)	negativ	positiv (6,5%**)	negativ	negativ
Putenfleisch	negativ	negativ	positiv (5,0%)	negativ
Hähnchenfleisch	negativ	negativ	negativ	positiv (5,3%)
Rindfleisch	negativ	negativ	positiv (4,0%)	negativ

*Tierarten-Gehalte in Klammern als „Lebensmittel“ wie in Spalte Zutaten angegeben (Ausnahme Eselfleisch s.***) gemäß gravimetrischer Mischung

** Der Gehalt von 6,5% Eselfleisch ist angegeben als Frischfleisch und wurde unter Berücksichtigung eines Trockengewichts von 27,7% berechnet [20].

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

2.1.1 Homogenität

Die **Homogenität der abgefüllten DLA-Proben** wurde anhand einer 5 fach Bestimmung von Chlorid mittels Titration nach MOHR überprüft. Die Wiederholstandardabweichung liegt bei allen vier Proben unter 5 % und somit im akzeptablen Bereich.

2.1.2 Stabilität

Bei dem Probenmaterial handelt es sich um Wurstbrät, das nach der Herstellung und Abfüllung für 1 h auf 100°C erhitzt wurde. Die Lagerstabilität bzw. Haltbarkeit der Proben (mikrobieller Verderb) ist somit erfahrungsgemäß während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 26. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 4 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 9. August 2019.

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

Es werden **4 unterschiedliche Proben** mit möglichen Gehalten an erhitzten, tierischen Lebensmitteln von **Esel, Rind, Pferd, Huhn und Pute** zur qualitativen Bestimmung angeboten. Die Parameter liegen in der Matrix Fleischprodukt (**Basis Schwein**) mit Gehalten von **1 - 10%** vor.

Die Analysenmethoden zur Bestimmung sind freigestellt.

Ergebnisangabe und Auswertung erfolgen **rein qualitativ (positiv / negativ)**.

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

2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich auf, an die Teilnehmer versandten Übermittlungsbögen bzw. -dateien. Zur Auswertung kamen die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben für die Analyten.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, 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 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Qualitative Auswertung

Verschiedene ELISA- und PCR-Methoden zum Nachweis von Tierarten in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper- bzw. Ziel-DNA-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung, sowie die Art des eingesetzten Fleischanteils (Muskulatur oder innere Organe wie beispielsweise Leber) die Nachweisbarkeit von Tierarten insbesondere mittels ELISA-Verfahren stark beeinflussen [19].

3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer

Die qualitative Bewertung der ELISA- und PCR-Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit dem **Konsenswert der Teilnehmer**. Ein Konsenswert wird ab 4 Ergebnissen festgestellt sofern $\geq 75\%$ positive oder negative Ergebnisse für einen Parameter vorliegen.

Die Bewertung erfolgt in der Form, dass die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl an Proben, für die ein Konsenswert erhalten wurde, angegeben wird. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt.

3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben

Die qualitative Bewertung der ELISA- und PCR-Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit den **Dotierungen der vier LVU-Proben**.

Hierzu wird die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl an Proben angegeben. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt angegeben.

4. Ergebnisse

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

Die qualitative Auswertung erfolgt für jeden Parameter getrennt nach ELISA- und PCR-Methoden. Lateral Flow Methoden werden, da sie i.d.R. Antikörper-basierte Testverfahren sind, gemeinsam mit den ELISA-Methoden bewertet.

Die Ergebnisse der Teilnehmer und die Bewertung sind tabellarisch folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv				
Anzahl negativ				
Prozent positiv				
Prozent negativ				
Konsenswert				
Dotierung				

4.1 Vergleichsuntersuchung Geflügelfleisch

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Geflügel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
5	negativ	negativ	positiv	positiv	-	4/4 (100%)	ETM	
9	negativ	negativ	positiv	positiv	-	4/4 (100%)	ETM3	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	2	2
Anzahl negativ	2	2	0	0
Prozent positiv	0	0	100	100
Prozent negativ	100	100	0	0
Konsenswert	keiner	keiner	keiner	keiner
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

Methoden:

ETM = ELISA-TEK™ Cooked Meat Species Kits

ETM3 = ELISA-TEK™ Cooked Meat 3 Species Kit

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen von Probe 3 und 4.

Ein Konsenswert für übereinstimmende Ergebnisse unabhängig von der Dotierung der Proben wird erst festgelegt, wenn mindestens 4 Ergebnisse vorliegen.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Geflügel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Huhn

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
3	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BS	
6	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
1	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
10	negativ	negativ	positiv	negativ	2/4 (50%)	2/4 (50%)	SFA-4P	
9	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
5	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	1	9
Anzahl negativ	10	10	9	1
Prozent positiv	0	0	10	90
Prozent negativ	100	100	90	10
Konsenswert	negativ	negativ	negativ	positiv
Dotierung	negativ	negativ	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 BS= Qualyfast® MEAT ID, Bioside
 CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0
 MS = Microsynth
 RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher
 SFA-4P= SureFood® ANIMAL ID 4plex, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID= SureFood Animal ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 4.

Teilnehmer 10 hat ein positives Ergebnis für Probe 3 und ein negatives Ergebnis für Probe 4 angegeben, was möglicherweise auf ein Vertauschen der beiden Proben zurückgeht.

Pute

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
					Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
6	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
1	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
10	negativ	negativ	negativ	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	SFA-4P	
9	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
5	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	8	1
Anzahl negativ	9	9	1	8
Prozent positiv	0	0	89	11
Prozent negativ	100	100	11	89
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	negativ
Dotierung	negativ	negativ	positiv	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

SFA-4P= SureFood® ANIMAL ID 4plex, R-Biopharm / Congen

SFA-ID= SureFood Animal ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 3.

Teilnehmer 10 hat ein negatives Ergebnis für Probe 3 und ein positives Ergebnis für Probe 4 angegeben. Die beiden Proben wurden vermutlich vom Teilnehmer vertauscht.

4.2 Vergleichsuntersuchung Pferdefleisch

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Pferd

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
5	positiv	negativ	negativ	negativ	-	4/4 (100%)	ETM	
9	positiv	negativ	negativ	negativ	-	4/4 (100%)	ETM	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	2	0	0	0
Anzahl negativ	0	2	2	2
Prozent positiv	100	0	0	0
Prozent negativ	0	100	100	100
Konsenswert	keiner	keiner	keiner	keiner
Dotierung	positiv	negativ	negativ	negativ

Methoden:

ETM = ELISA-TEK Cooked Meat species ELISA Kit

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 1.

Ein Konsenswert für übereinstimmende Ergebnisse unabhängig der Dotierung der Proben wird erst festgelegt, wenn mindestens 4 Ergebnisse vorliegen.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Pferd

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	ASU	
5	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	ASU	Kreuzreaktionen zu Esel nicht auszuschließen (Differenzierung nicht sicher möglich); Nachweis eher Equiden-spezifisch
7	positiv	negativ	negativ	negativ	3/3 (100%)	4/4 (100%)	ASU	geringe Spuren (<1% in L2) evtl. Kreuzreaktion zu Esel
3	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	BS	
6	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	CP	Pferd und Esel nicht unterscheidbar
2	positiv	negativ	negativ	negativ	3/3 (100%)	4/4 (100%)	MS	
1	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	RF	
10	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	SFA-4P	
9	positiv	negativ	negativ	negativ	3/3 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
8	positiv	positiv	negativ	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	div	Probe 2 ist nur schwach positiv, <1%, könnte auch Esel sein

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	10	7	0	0
Anzahl negativ	0	3	10	10
Prozent positiv	100	70	0	0
Prozent negativ	0	30	100	100
Konsenswert	positiv	keiner	negativ	negativ
Dotierung	positiv	negativ	negativ	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 BS= Qualyfast® MEAT ID, Bioside
 CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0
 MS = Microsynth
 RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher
 SFA-4P= SureFood® ANIMAL ID 4plex, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID= SureFood Animal ID, R-Biopharm / Congen

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse für die Proben 1, 3 und 4 stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 1.

Für Probe 2 (ohne Zusatz von Pferdefleisch, jedoch Dotierung mit Esel-fleisch) wurden uneinheitliche Ergebnisse erhalten, sodass kein Konsenswert $\geq 75\%$ festgestellt werden konnte.

Bei Probe 2 wurden sieben positive Ergebnisse angegeben, die wahrscheinlich auf eine Kreuzreaktion mit Esel zurückzuführen sind. Zwei Teilnehmer weisen darauf hin, dass eine Unterscheidung von Pferd und Esel mit der eingesetzten Methode ASU bzw. CP nicht sicher möglich sei.

Zwei weitere Teilnehmer haben auf eine schwache Kreuzreaktivität hingewiesen. Mögliche Kreuzreaktivitäten sollen in den Testkit-Informationen der Hersteller dokumentiert sein.

4.3 Vergleichsuntersuchung Rindfleisch

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Rind

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
5	negativ	negativ	positiv	negativ	-	4/4 (100%)	ETM	
9	negativ	negativ	positiv	negativ	-	4/4 (100%)	ETM3	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	2	0
Anzahl negativ	2	2	0	2
Prozent positiv	0	0	100	0
Prozent negativ	100	100	0	100
Konsenswert	keiner	keiner	keiner	keiner
Dotierung	negativ	negativ	positiv	negativ

Methoden:

ETM = ELISA-TEK™ Cooked Meat Species Kits

ETM3= ELISA-TEK™ Cooked Meat 3 Species Kit: beef, pork,

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 3.

Ein Konsenswert für übereinstimmende Ergebnisse unabhängig der Dotierung der Proben wird erst festgelegt, wenn mindestens 4 Ergebnisse vorliegen.

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Rind

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
3	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BS	
6	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
1	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
10	negativ	negativ	negativ	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	SFA-4P	
9	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
5	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	9	1
Anzahl negativ	10	10	1	9
Prozent positiv	0	0	90	10
Prozent negativ	100	100	10	90
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	negativ
Dotierung	negativ	negativ	positiv	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 BS= Qualyfast® MEAT ID, Bioside
 CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0
 MS = Microsynth
 RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher
 SFA-4P= SureFood® ANIMAL ID 4plex, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID= SureFood Animal ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierungen von Probe 3.

Teilnehmer 10 hat ein negatives Ergebnis für Probe 3 und ein positives Ergebnis für Probe 4 angegeben.

4.4 Vergleichsuntersuchung Eselfleisch

4.4.1 ELISA-Ergebnisse: Esel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Es wurden keine Ergebnisse für den Parameter Esel mittels ELISA-Methoden abgegeben.

4.4.2 PCR-Ergebnisse: Esel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	positiv	positiv	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	ASU	Spezifität: Esel/Pferd
6	negativ	negativ	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	CP	
9	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-3P	
10	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
2	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
7	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	geringe Spuren (ca. 0,1%) in L1 evtl. Kreuzreaktion zu Pferd

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	1	5	0	0
Anzahl negativ	5	1	6	6
Prozent positiv	17	83	0	0
Prozent negativ	83	17	100	100
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	negativ
Dotierung	negativ	positiv	negativ	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

SFA-3P= SureFood® ANIMAL ID 3plex, R-Biopharm / Congen

SFA-4P= SureFood® ANIMAL ID 4plex, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 2.

Für Probe 1 (ohne Zusatz von Eselfleisch, jedoch Dotierung mit Pferdefleisch) wurde ein positives Ergebnis erhalten. Der Teilnehmer weist darauf hin, dass eine Unterscheidung von Esel und Pferd mit der eingesetzten Methode ASU nicht möglich ist.

4.5 Vergleichsuntersuchung Schweinefleisch

4.5.1 ELISA-Ergebnisse: Schwein

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
5	positiv	positiv	positiv	positiv	-	4/4 (100%)	ETM	
9	positiv	positiv	positiv	positiv	-	4/4 (100%)	ETM3	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	2	2	2	2
Anzahl negativ	0	0	0	0
Prozent positiv	100	100	100	100
Prozent negativ	0	0	0	0
Konsenswert	keiner	keiner	keiner	keiner
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv

Methoden:

ETM = ELISA-TEK™ Cooked Meat Species Kits

ETM3= ELISA-TEK™ Cooked Meat 3 Species Kit

Anmerkung:

Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Basis „Schweinefleisch“ der Proben.

Ein Konsenswert für übereinstimmende Ergebnisse unabhängig der Dotierung der Proben wird erst festgelegt, wenn mindestens 4 Ergebnisse vorliegen.

4.5.2 PCR-Ergebnisse: Schwein

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
4	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
3	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	BS	
6	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
9	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
5	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	8	8	8	8
Anzahl negativ	0	0	0	0
Prozent positiv	100	100	100	100
Prozent negativ	0	0	0	0
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	positiv
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

BS= Qalylfast® MEAT ID, Bioside

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

MS = Microsynth

SFA-ID= SureFood Animal ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Basis „Schweinefleisch“ der Proben.

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: Geflügel

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ETM	5	negativ	negativ	positiv	positiv	2	Fleisch	r-biopharm/ Elisa Technologies
ETM3	9	negativ	negativ	positiv*	positiv*	0,01	Protein	Cooked Meat ELISA Kit Beef, Pork, Poultry von ELISA Technologies/Vertrieb über R-biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ETM	5			n. Testkitbeschreibung	Geflügel bei Probe 4 schwach positiv
ETM3	9	510603		gemäß Test-Anleitung	*Der ELISA-TEK diskriminert nicht zwischen Huhn und Pute, sondern erkennt beide als "Geflügel".

5.1.2 ELISA: Pferd*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ETM	5	positiv	negativ	negativ	negativ	2	Fleisch	r-biopharm/ Elisa Technologies
ETM	9	positiv	negativ	negativ	negativ	0,01	Protein	Cooked Meat Horse Kit von ELISA Technologies/Vertrieb über R-biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ETM	5			n. Testkitbeschreibung	laut Kitbeschreibung schwache Kreuzreaktivität zu Esel oder Maultier möglich
ETM	9	510651		gemäß Test-Anleitung	

5.1.3 ELISA: Rind*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ETM	5	negativ	negativ	positiv	negativ	2	Fleisch	r-biopharm/ Elisa Technologies
ETM3	9	negativ	negativ	positiv	negativ	0,01	Protein	Cooked Meat ELISA Kit Beef, Pork, Poultry von ELISA Technologies/Vertrieb über R-biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ETM	5			n. Testkitbeschreibung	
ETM3	9	510603		gemäß Test-Anleitung	

5.1.4 ELISA: Esel*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ETM	9	-	-	-	-			Cooked Meat Horse Kit von ELISA Technologies/Vertrieb über R-biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ETM	9	510651		gemäß Test-Anleitung	Der ELISA TEK ist auf Pferd ausgelegt, kann aber auch Kreuzreaktionen mit Esel haben. In Probe 2 lag eine Extinktion knapp unter dem Cut off vor, die den Verdacht nahelegt, dass in Probe 2 eventuell Esel enthalten sein könnte. Offiziell wird aber mittels ELSE keine Aussage zu Esel in allen 4 Proben gemacht.

5.1.5 ELISA: Schwein*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ETM	5	positiv	positiv	positiv	positiv	2	Fleisch	r-biopharm/ Elisa Technologies
ETM3	9	positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	Protein	Cooked Meat ELISA Kit Beef, Pork, Poultry von ELISA Technologies /Vertrieb über R-biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ETM	5			n. Testkitbeschreibung	
ETM3	9	510603		gemäß Test-Anleitung	

5.1.8 PCR: Geflügel*Primärdaten Huhn*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1	DNA	
ASU	7	negativ	negativ	negativ	positiv	0,001	DNA	RT-PCR, Hausmethode
BS	3	negativ	negativ	negativ	positiv	0,001	w/w	Nucleo Spin Food - MN Qualyfast® MEAT ID-Bioside
CP	6	negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
MS	2	negativ	negativ	negativ	positiv	0,005	DNA	Microsynth
RF	1	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1	Fleisch	Thermo Fisher Rapidfinder Kit
SFA-4P	10	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal 4plex Pork/Chicken/Turkey+IAAC
SFA-ID	9	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1	Fleisch	SureFood Animal ID Chicken IAAC; Congen/R-biopharm
div	5	negativ	negativ	negativ	positiv	1	Fleisch	PCR-RFLP nach Literaturmethode (Meyer et al., 1995 - modifiziert nach §64 LFGB RV-Script) mittels für Geflügel optimierter Cytochrom b Gen spezifischer Consensusprimer-Primer
div	8	negativ	negativ	negativ	positiv	0,001	DNA	Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden Huhn

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-61	Huhn	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
ASU	7	L08.00-61 / 2016-03	Cytochrom B	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 Zyklen	
BS	3	FC140945L-A3.01017			
CP	6	A-500-12			
MS	2	1204	TF-GB3X6009	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
RF	1	A24393		Thermo Fisher GMO Extraction Kit 4466336	
SFA-4P	10	S6132	Gallus gallus	SureFood Prep Basic	
SFA-ID	9	S6115		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
div	5		cytb (359 bp)	Extraktion nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega); konventionelle PCR mit 30 Zyklen und anschließender RFLP-Analyse	
div	8		Cytochrom B	Real Time PCR	

Primärdaten **Pute**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	DNA	
ASU	7	negativ	negativ	positiv	negativ	0,001	DNA	RT-PCR, Hausmethode
CP	6	negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
MS	2	negativ	negativ	positiv	negativ	0,005	DNA	Microsynth
RF	1	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	Fleisch	Thermo Fisher Rapidfinder Kit
SFA-4P	10	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1	Fleisch	SureFood Animal 4plex Pork/Chicken/Turkey+IAAC
SFA-ID	9	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID Turkey IAAC; Congen/R-biopharm
div	5	negativ	negativ	positiv	negativ	1	Fleisch	PCR-RFLP nach Literaturmethode (Meyer et al., 1995 - modifiziert nach §64 LFGB RV-Script) mittels für Geflügel optimierter Cytochrom b Gen spezifischer Consensusprimer-Primer
div	8	negativ	negativ	positiv	negativ	0,001	DNA	Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden **Pute**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-61	Pute	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
ASU	7	L08.00-61 / 2016-03	Prolactin-Rezeptor	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 Zyklen	
CP	6	A-500-12			
MS	2	1204	Prolactin Rezeptor, L76587	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
RF	1	A24394		Thermo Fisher GMO Extraction Kit 4466336	
SFA-4P	10	S6132	Meleagris gallopavo	SureFood Prep Basic	
SFA-ID	9	S6116		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
div	5		cytb (359 bp)	Extraktion nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega); konventionelle PCR mit 30 Zyklen und anschließender RFLP-Analyse	
div	8		Cytochrom B	Real Time PCR	

5.1.9 PCR: Pferd*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	DNA	
ASU	5	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	PCR-RFLP nach § 64 LFGB Methode L 06.26/27-2 (Dezember 2007)
ASU	7	positiv	negativ	negativ	negativ	0,001	DNA	RT-PCR, Hausmethode
BS	3	positiv	positiv	negativ	negativ	0,001	w/w	Nucleo Spin Food - MN Qualyfast® MEAT ID-Bioside
CP	6	positiv	positiv	negativ	negativ		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
MS	2	positiv	negativ	negativ	negativ	0,005	DNA	Microsynth
RF	1	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	Thermo Fisher Rapidfinder Kit
SFA-4P	10	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	SureFood Animal 4plex Camel/Horse/Donkey+IAAC
SFA-ID	9	positiv	negativ	negativ	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID 3plex Horse/Donkey + IAAC; Congen/R-biopharm
div	8	positiv	positiv	negativ	negativ	0,001	DNA	Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-62	Esel/ Pferd	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
ASU	5	L 06.26/27-2 (Dezember 2007)	cytb (146 bp)	Extraktion nach ASU § 64 LFGB L 15 05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega); konventionelle PCR mit 40 Zyklen und anschließender RFLP-Analyse	Kreuzreaktionen zu Esel nicht auszuschließen (Differenzierung nicht sicher möglich); Nachweis eher Equiden-spezifisch
ASU	7	L08.00-62 / 2016-03	Wachstumshormon-Rezeptor	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 Zyklen	geringe Spuren (<1% in L2) evtl. Kreuzreaktion zu Esel
BS	3	FC140945L - A3.01017			
CP	6	A-500-12			Pferd und Esel nicht unterscheidbar
MS	2	1206	Wachstumshormon-Rezeptor	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
RF	1	A15570		Thermo Fisher GMO Extraction Kit 4466336	
SFA-4P	10	S6131	Equus caballus	SureFood Prep Basic	
SFA-ID	9	S6119		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
div	8		Cytochrom B	Real Time PCR	Probe 2 ist nur schwach positiv, <1%, könnte auch Esel sein

5.1.10 PCR: Rind*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	DNA	
ASU	7	negativ	negativ	positiv	negativ	0,001	DNA	RT-PCR, Hausmethode
BS	3	negativ	negativ	positiv	negativ	0,001	w/w	Nucleo Spin Food - MN Qualyfast® MEAT ID-Bioside
CP	6	negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
MS	2	negativ	negativ	positiv	negativ	0,005	DNA	Microsynth
RF	1	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	Fleisch	Thermo Fisher Rapidfinder Kit
SFA-4P	10	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1	Fleisch	SureFood Animal 4plex Beef/Sheep/Goat+IAAC
SFA-ID	9	negativ	negativ	positiv	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID Beef IAAC; Congen/R-biopharm
div	5	negativ	negativ	positiv	negativ	1	Fleisch	PCR-RFLP nach Literaturmethode (Wolf et al., 1999) mittels Cytochrom b Gen spezifischer Consensusprimer-Primer
div	8	negativ	negativ	positiv	negativ	0,001	DNA	Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-61	Rind	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
ASU	7	L08.00-61 / 2016-03	b-Actin	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 cycles	
BS	3	FC140945L-A3.01017			
CP	6	A-500-12			
MS	2	1206	Beta-actin-gen EH170825	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
RF	1	A24391		Thermo Fisher GMO Extraction Kit 4466336	
SFA-4P	10	S6121	Bos taurus	SureFood Prep Basic	
SFA-ID	9	S6113		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
div	5		cytb (464 bp)	Extraktion nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega); konventionelle PCR mit 40 Zyklen und anschließender RFLP-Analyse	
div	8		Satelliten IV DNA	Real Time PCR	

5.1.11 PCR: Esel*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	DNA	
CP	6	negativ	negativ	negativ	negativ		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
SFA-3P	9	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID 3plex Horse/Donkey + IAAC; Congen/R-biopharm
SFA-4P	10	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	SureFood Animal 4plex Camel/Horse/Donkey+IAAC
div	2	negativ	positiv	negativ	negativ	0,005	DNA	Hausmethode
div	7	negativ	positiv	negativ	negativ	0,001		RT-PCR, Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-62	Esel/ Pferd	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
CP	6	A-500-12			
SFA-3P	9	S6119		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
SFA-4P	10	S6131	Equus asinus	SureFood Prep Basic	
div	2		X97337, mitochondrial cytochrome b	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
div	7	Literaturmethode	cytochrome b	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 cycles	geringe Spuren (ca. 0,1%) in L1 evtl. Kreuzreaktion zu Pferd

5.1.12 PCR: Schwein*Primärdaten*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
		qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	mg/kg	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	4	positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	DNA	
ASU	7	positiv	positiv	positiv	positiv	0,001	DNA	RT-PCR, Hausmethode
BS	3	positiv	positiv	positiv	positiv	0,001	w/w	Nucleo Spin Food - MN Qalyfast® MEAT ID-Bioside
CP	6	positiv	positiv	positiv	positiv		DNA	LCD Array Kit Meat 5.0; Fa. Chipron
MS	2	positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	DNA	Microsynth
SFA-ID	9	positiv	positiv	positiv	positiv	0,5	DNA	SureFood Animal ID Pork IAAC; Congen/R-biopharm
div	5	positiv	positiv	positiv	positiv	1	Fleisch	PCR-RFLP nach Literaturmethode (Meyer et al., 1995) mittels Cytochrom b Gen spezifischer Consensusprimer-Primer
div	8	positiv	positiv	positiv	positiv	0,001	DNA	Hausmethode

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
ASU	4	L 08.00-61	Schwein	CTAB-Extraktion, Taqman PCR, 45 Zyklen	
ASU	7	L08.00-61 / 2016-03	b-Actin	CTAB/Proteinase K/Chloroformextraktion/FFS-Kit Promega/RT-PCR/45 Zyklen	
BS	3	FC140945L-A3.01017			
CP	6	A-500-12			
MS	2	1206	Beta-actin-gen DQ452569	DNA Extraktion mit Proteinase K, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
SFA-ID	9	S6114		200mg Probe, DNeasy Mericon Food; Qiagen; Real Time PCR 35 Zyklen	zusätzlicher Nachweis mittels LCD-Array, Meat 5.0, Fa. Chipron
div	5		cytb (359 bp)	Extraktion nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 (SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit Proteinase K, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega); konventionelle PCR mit 35 Zyklen und anschließender RFLP-Analyse	
div	8	Hausmethode	Cytochrom B	Real Time PCR	

5.2 Homogenität**5.2.1 Homogenitätsuntersuchung der abgefüllten LVU-Proben**

Homogenitätsprüfung anhand der Bestimmung von Chlorid mittels Titration nach MOHR

Homogenitätstest Probe 1

Wiederholmessungen	mg/100g
1	229,0
2	237,5
3	237,5
4	250,9
5	250,8

Allgemeiner Mittelwert 241,1
 Wiederholstandardabweichung 9,52 3,9%

Homogenitätstest Probe 2

Wiederholmessungen	mg/100g
1	225,9
2	218,9
3	232,9
4	232,7
5	219,3

Allgemeiner Mittelwert 225,9
 Wiederholstandardabweichung 6,85 3,0%

Homogenitätstest Probe 3

Wiederholmessungen	mg/100g
1	212,4
2	223,0
3	223,0
4	198,2
5	212,4

Allgemeiner Mittelwert 213,8
 Wiederholstandardabweichung 10,20 4,8%

Homogenitätstest Probe 4

Wiederholmessungen	mg/100g
1	260,0
2	261,5
3	260,3
4	254,5
5	268,5

Allgemeiner Mittelwert 261,0
 Wiederholstandardabweichung 5,01 1,9%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 44-2019
EP-Name	Tierarten-Screening II – 4 Proben qualitativ: Esel, Rind, Pferd, Huhn und Pute in Fleischprodukt (Schwein)
Probenmatrix	Proben 1-4: Wurstbrät (erhitzt)/ Zutaten: Schweinefleisch, Wasser, Schweine-Gelatine, Salz, Natriumcitrat und weitere Fleischspezialitäten
Probenzahl und Probenmenge	4 unterschiedliche Proben 1-4: je 25 g
Lagerungsinformation	Proben 1-4: gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit tiefgefroren < -18 °C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ: Esel, Rind, Pferd, Huhn und Pute Proben 1-4: ca. 1-10%
Untersuchungsmethoden	Die Analysemethoden sind freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe 1 - 4 je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	positiv / negativ (Nachweisgrenze in %)
Anzahl von Dezimalstellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Abgabetermin	spätestens 23. August 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	Alexandra Scharf M.Sc.

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

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

[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. Lebensmittelchemische Gesellschaft [LChG der GDCh] „Stellungnahme der AG zu: Methoden zur Differenzierung von Tierarten in Lebensmitteln - Status quo, (2016), Food Chemistry Society of the GDCh]
20. Carcass analysis and meat composition of the donkey; A.A. Aganga, A.O. Aganga, T. Thema, K.O. Obocheleng; Pakistan Journal of Nutrition, 2(3), 138-147 (2003)

DLA 44/2019 - Tierarten-Screening II

Von 10 Teilnehmern haben alle mindestens ein ELISA- oder PCR-Ergebnis eingereicht. Die Auswertung der 4 Proben erfolgte rein qualitativ hinsichtlich der Parameter Schwein, Huhn, Pute, Esel Rind und Pferd. Es wurden jeweils die Übereinstimmungen bezüglich der Konsenswerte der Teilnehmer und bezüglich der Dotierungen der Proben bewertet. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen. Alle Teilnehmer hatten ihren Sitz in Deutschland oder im Europäischen Ausland (Großbritannien, Österreich, Italien).