



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 45/2019**

**Tierarten-Screening III:**

**Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und  
Ziegenmilch in Milchprodukt (Hirtenkäse)**

***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><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b>          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 45/2019
<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 (30. Januar 2020)</p> <p>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: 30. Januar 2020</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Keine          As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: none</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 Stabilität.....	5
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 Büffelmilch-Hirtenkäse.....	9
4.1.1 PCR-Ergebnisse: Büffel.....	9
4.1.2 Ergebnisse andere Methoden: Büffel.....	10
4.2 Vergleichsuntersuchung Kuhmilch-Hirtenkäse.....	11
4.2.1 PCR-Ergebnisse: Kuh.....	11
4.2.2 Ergebnisse andere Methoden: Kuh.....	12
4.3 Vergleichsuntersuchung Schafmilch-Hirtenkäse.....	13
4.3.1 PCR-Ergebnisse: Schaf.....	13
4.3.2 Ergebnisse andere Methoden: Schaf.....	14
4.4 Vergleichsuntersuchung Ziegenmilch-Hirtenkäse.....	15
4.4.1 PCR-Ergebnisse: Ziege .....	15
4.4.2 Ergebnisse andere Methoden: Ziege.....	16
4.5 Vergleichsuntersuchung Säugernachweis.....	17
4.5.1 PCR-Ergebnisse: Säuger.....	17
5. Dokumentation.....	18
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	18
5.1.1 PCR: Büffel.....	18
5.1.2 PCR: Kuh.....	20
5.1.3 PCR: Schaf.....	22
5.1.4 PCR: Ziege.....	24
5.1.5 PCR: Säuger.....	25
5.1.6 Andere Methoden: Büffel.....	26
5.1.7 Andere Methoden: Kuh.....	27
5.1.8 Andere Methoden: Schaf.....	28
5.1.9 Andere Methoden: Ziege.....	29
5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	30
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	31
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	32

## 1. Einleitung

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

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

Es wurden 4 unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch zur qualitativen Bestimmung angeboten. Die der Matrix Milchprodukt (Hirtenkäse einer Tierart) zugesetzten Parameter lagen in Gehalten von 8 - 12% vor.

Bei den Rohstoffen für die verwendeten Tierarten handelte es sich um handelsübliche Hirtenkäse-Zubereitungen, die jeweils ausschließlich aus der Milch einer Tierart hergestellt waren. Die entsprechenden, mengenmäßigen Anteile der Rohstoffe für die jeweilige Probe (s. Tab. 1) wurden mittels eines Kutters zerkleinert, durchmischt und so lange gerührt bis eine cremige, homogene Masse entstanden war. Anschließend wurden die Proben lyophilisiert. Die gefriergetrockneten Proben wurden erneut zerkleinert und homogenisiert. Die Proben wurden zu Portionen von ca. 25 g in Kunststoffbehälter abgefüllt.

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

Zutaten*	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Kuhmilch-Hirtenkäse	positiv (92%)	positiv (10%)	positiv (89%)	negativ
Büffelmilch-Hirtenkäse	positiv (8%)	Positiv (81%)	negativ	negativ
Ziegenmilch-Hirtenkäse	negativ	negativ	positiv (11%)	Positiv (90%)
Schafmilch-Hirtenkäse	negativ	Positiv (9%)	negativ	Positiv (10%)

\*Tierarten-Gehalte in Klammern als „Lebensmittel“ wie in Spalte Zutaten angegeben gemäß gravimetrischer Mischung

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

### 2.1.1 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 Bedingungen 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-Referenzmaterialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert  $< 0,5$ ) eine gute Haltbarkeit der Probe und Lagerstabilität gegenüber mikrobiellem Verderb und bezüglich des Gehalts an den EP-Parametern.

Der  $a_w$ -Wert der EP-Proben lag bei  $0,25-0,41$  ( $22-25^\circ\text{C}$ ). 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 35. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 4 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 11. Oktober 2019.

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

*Es werden 4 unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch zur qualitativen Bestimmung angeboten. Die Parameter liegen in der Matrix Milchprodukt (Käse) mit Gehalten von 5 - 20% vor.*

*Die Analysemethoden zur Bestimmung sind freigestellt. Ergebnisangabe und Auswertung erfolgen rein qualitativ (positiv/negativ) mit Angabe der erzielten Übereinstimmungen mit den Konsenswerten der Teilnehmer und der Dotierungen der Proben 1-4.*

*Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung. (siehe Dokumentation unter Punkt 5.2 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 26 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

### 3. Qualitative Auswertung

Verschiedene Protein-basierende Methoden (z.B. Isoelektrische Fokussierung, ELISA) oder PCR-Methoden zum Nachweis von Tierarten in Lebensmitteln können verschiedene pH-Gradienten, 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 Lagerung und Reifezeit (bei Käse) die Nachweisbarkeit von Tierarten stark beeinflussen [19].

#### 3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer

Die qualitative Bewertung der PCR-Ergebnisse und Ergebnisse weiterer Methoden 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 PCR-Ergebnisse und Ergebnisse weiterer Methoden 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 PCR-Methoden und anderen Methoden.

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 Büffelmilch-Hirtenkäse

### 4.1.1 PCR-Ergebnisse: Büffel

#### 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		
7	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
21	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
23	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
25	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
3	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	Geringe DNA-Spuren in Probe 4; generell geringe DNA-Ausbeute
19	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
14	negativ	positiv	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	SFA-3P	
24	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
2	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
10	negativ	positiv	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	div	
12	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
13	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
17	positiv	positiv		negativ	3/3 (100%)	3/3 (100%)	div	Probe 3 Spuren
18	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
26	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	14	16	0	0
Number negative	2	0	15	16
Percent positive	88	100	0	0
Percent negative	13	0	100	100
Consensus value	positiv	positiv	negativ	negativ
Spiking	positiv	positiv	negativ	negativ

#### Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

SFA-3P= SureFood® ANIMAL ID 3plex, 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 1 und Probe 2.

Zwei Teilnehmer haben für die niedriger dotierte Probe 1 (8% Büffelmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten. Probe 2 enthielt 81% Büffelmilch-Hirtenkäse.

#### 4.1.2 Ergebnisse andere Methoden: Büffel

##### 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	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	Bisher wird keine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch vorgenommen
6	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	
7	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	ASU-Methode modifiziert siehe Dokumentation
1	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
10	negativ	positiv	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	IEF	
22	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	LC-MS	
11	positiv	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	6	7	0	0
Number negative	1	0	7	7
Percent positive	86	100	0	0
Percent negative	14	0	100	100
Consensus value	positiv	positiv	negativ	negativ
Spiking	positiv	positiv	negativ	negativ

##### Methoden:

ASU/IEF = Isoelektrische Fokussierung nach ASU §64 Methode

IEF = Isoelektrische Fokussierung

LC-MS= Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie

NGS = Next Generation Sequencing/Amplicon Sequencing

##### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 1 und Probe 2.

Ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode (Isoelektrische Fokussierung) für die niedriger dotierte Probe 1 (8% Büffelmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten.

Teilnehmer 5 weist darauf hin, dass eine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch mit der eingesetzten Methode ASU/IEF bisher nicht möglich sei. Dennoch gelingt ihm zusammen mit den anderen Teilnehmern, die diese Methode verwendet haben, eine Bewertung von Probe 3 in Übereinstimmung mit der Dotierung (als negativ), obwohl diese unter anderem 89% Kuhmilch-Hirtenkäse enthält.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Kuhmilch-Hirtenkäse

### 4.2.1 PCR-Ergebnisse: Kuh

#### 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		
7	positiv	negativ	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	CP	
21	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
23	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
25	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	
14	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	Probe 4: Spuren > 0,01 %
15	positiv	negativ	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	GI	
3	positiv	negativ	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	MS	Probe 2: Spuren
20	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
19	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
24	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
2	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
10	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
12a	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
12b	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
13	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
17	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
18	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
26	positiv	negativ	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	20	16	20	0
Number negative	0	4	0	20
Percent positive	100	80	100	0
Percent negative	0	20	0	100
Consensus value	positiv	positiv	positiv	negativ
Spiking	positiv	positiv	positiv	negativ

#### Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

GI= GEN-IAL® First-Meat PCR kit

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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 der Proben 1-3.

Vier Teilnehmer hatten mit den verwendeten Methoden (CP, GI, MS und eine nicht näher beschriebene Methode (div)) für die niedriger dotierte Probe 2 (10% Kuhmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten. Teilnehmer 3 weist darauf hin, dass in Probe 2 Spuren von Rinder-DNA nachgewiesen wurden.

#### 4.2.2 Ergebnisse andere Methoden: Kuh

##### 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	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	Bisher wird keine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch vorgenommen
6	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	
7	positiv	negativ	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	ASU/IEF	ASU-Methode modifiziert (siehe Dokumentation)
1	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
4	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	Keine Unterscheidung zwischen Büffel und Kuh
10	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
22	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	LC-MS	
20	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MALDI-TOF	
11	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
2	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	
16	positiv	positiv	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	11	10	11	0
Number negative	0	1	0	11
Percent positive	100	91	100	0
Percent negative	0	9	0	100
Consensus value	positiv	positiv	positiv	negativ
Spiking	positiv	positiv	positiv	negativ

##### Methoden:

ASU/IEF = Isoelektrische Fokussierung nach ASU §64 Methode

IEF = Isoelektrische Fokussierung

LC-MS= Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie

MALDI-TOF-MS= Matrix Assisted Laser Desorption Ionization —

Time of Flight Mass Spectrometry

NGS = Next Generation Sequencing/Amplicon Sequencing

RS = Ridascreen® CIS, R-Biopharm ELISA

##### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung der Proben 1-3.

Ein Teilnehmer hat mit einer modifizierten ASU/IEF Methode für die niedriger dotierte Probe 2 (10% Kuhmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten. Teilnehmer 4 und Teilnehmer 5 weisen darauf hin, dass eine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch mit den eingesetzten Methoden ASU und IEF bisher nicht möglich sei.

## 4.3 Vergleichsuntersuchung Schafmilch-Hirtenkäse

### 4.3.1 PCR-Ergebnisse: Schaf

#### 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		
7	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
21	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
23	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
25	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	
14	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	
15	negativ	negativ	negativ	positiv	3/4 (75%)	3/4 (75%)	GI	
3	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
20	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MS	
19	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
24	negativ	positiv	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	SFA-4P	Kreuzreaktivität zu Springbock ( <i>Antidorcas marsupialis</i> ) 100 %
2	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
10	positiv	positiv	positiv	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	div	
12	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
13	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
17	negativ	positiv	negativ		3/3 (100%)	3/3 (100%)	div	Probe 4 Spuren
18	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
26	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	1	18	1	17
Number negative	18	1	18	1
Percent positive	5	95	5	94
Percent negative	95	5	95	6
Consensus value	negativ	positiv	negativ	positiv
Spiking	negativ	positiv	negativ	positiv

#### Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

GI= GEN-IAL® First-Meat PCR kit

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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 der Proben 2 und 4.

Ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode GI für Probe 2 (9% Schafmilch-Hirtenkäse) und ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode SFA-4P für Probe 4 (10% Schafmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten. Teilnehmer 17 weist darauf hin, dass er in Probe 4 Spuren von Schafmilch nachgewiesen hat.

Ein Teilnehmer hat mit einer nicht näher angegebenen Methode für alle 4 Proben positive Ergebnisse erhalten.

### 4.3.2 Ergebnisse andere Methoden: Schaf

#### 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	negativ	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	ASU/IEF	Bisher wird keine Unterscheidung von Schaf- und Ziegenmilch vorgenommen
6	negativ	positiv	positiv	positiv	3/4 (75%)	3/4 (75%)	ASU/IEF	Schafmilchprotein/Ziegenmilchprotein mit Methodik nicht voneinander zu differenzieren
7	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	ASU-Methode modifiziert (siehe Dokumentation)
1	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	visuelle Auswertung
4	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
10	positiv	positiv	positiv	positiv	2/4 (50%)	2/4 (50%)	IEF	
22	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	LC-MS	
20	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MALDI-TOF-MS	
11	negativ	positiv	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	1	8	2	9
Number negative	8	1	7	0
Percent positive	11	89	22	100
Percent negative	89	11	78	0
Consensus value	negativ	positiv	negativ	positiv
Spiking	negativ	positiv	negativ	positiv

#### Methoden:

ASU/IEF = Isoelektrische Fokussierung nach ASU §64 Methode

IEF = Isoelektrische Fokussierung

LC-MS= Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie

MALDI-TOF-MS= Matrix Assisted Laser Desorption Ionization —

Time of Flight Mass Spectrometry

NGS = Next Generation Sequencing/Amplicon Sequencing

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung der Proben 2 und 4.

Ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode ASU/IEF für Probe 2 (9% Schafmilch-Hirtenkäse) ein negatives Ergebnis erhalten. Teilnehmer 5 und Teilnehmer 6 weisen darauf hin, dass eine Unterscheidung von Schaf- und Ziegenmilch mit der eingesetzten Methode ASU/IEF bisher nicht möglich sei. Teilnehmer 6 gibt dementsprechend für alle Proben, in denen Schafmilch- oder Ziegenmilch-Hirtenkäse enthalten ist (Proben 2-4), ein positives Ergebnis an. Einem weiteren Teilnehmer gelingt mit einer Modifizierung (siehe Dokumentation) der Methode ASU/IEF eine mit der Dotierung übereinstimmende Bewertung aller Proben. Ein Teilnehmer erhält unter Verwendung der Methode IEF für alle Proben ein positives Ergebnis, obwohl Probe 1 weder mit Schafmilch- noch mit Ziegenmilch-Hirtenkäse dotiert wurde.

## 4.4 Vergleichsuntersuchung Ziegenmilch-Hirtenkäse

### 4.4.1 PCR-Ergebnisse: Ziege

#### 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		
7	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	CP	
21	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	CP	
23	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	CP	
25	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	CP	
8	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	GI	
14	positiv	positiv	positiv	positiv	2/3 (67%)	2/4 (50%)	GI	
15	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	GI	
3	negativ	negativ	positiv	negativ	2/3 (67%)	3/4 (75%)	MS	Geringe DNA-Spuren in Probe 4; generell geringe DNA-Ausbeute
20	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	MS	
19	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	RF	
24	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
2	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	div	
10	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	div	
12a	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	div	
12b	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	div	
13	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	div	Probe 2 Spuren Ziege < 0,5%
17	negativ	positiv	positiv	positiv	3/3 (100%)	3/4 (75%)	div	
18	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	div	
26	negativ	negativ	positiv	positiv	3/3 (100%)	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	1	8	20	19
Number negative	19	12	0	1
Percent positive	5	40	100	95
Percent negative	95	60	0	5
Consensus value	negativ	keiner	positiv	positiv
Spiking	negativ	negativ	positiv	positiv

#### Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

GI= GEN-IAL® First-Meat PCR kit

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

#### Anmerkung:

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

Für Probe 2 (ohne Zusatz von Ziegenmilch-Hirtenkäse, jedoch Dotierung mit 9% Schafmilch-Hirtenkäse) wurden uneinheitliche Ergebnisse erhalten, sodass kein Konsenswert  $\geq 75\%$  festgestellt werden konnte.

Ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode MS ein negatives Ergebnis für Probe 4 (90% Ziegenmilch-Hirtenkäse, 10% Schafmilch-Hirtenkäse) erhalten. Für Probe 2 wurden mit den Methoden GI, CP und andere (div) positive Ergebnisse erhalten, die evtl. auf eine Kreuzreaktivität zu Schaf oder eine geringe Kreuzkontamination des Schafskäses mit Ziegenmilch zurückzuführen sind. Ein Teilnehmer hat unter Verwendung der Methode GI ein positives Ergebnis für Probe 1 erhalten (92% Kuhmilch-Hirtenkäse, 8% Büffelmilch-Hirtenkäse).

#### 4.4.2 Ergebnisse andere Methoden: Ziege

##### 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	positiv	positiv	positiv	3/4 (75%)	3/4 (75%)	ASU/IEF	Bisher wird keine Unterscheidung von Schaf- und Ziegenmilch vorgenommen
6	negativ	positiv	positiv	positiv	3/4 (75%)	3/4 (75%)	ASU/IEF	Schafmilchprotein/Ziegenmilchprotein mit Methodik nicht voneinander zu differenzieren
7	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU/IEF	ASU-Methode modifiziert (siehe Dokumentation)
1	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	visuelle Auswertung
4	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
10	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
22	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	LC-MS	
20	negativ	-	-	positiv	2/2 (100%)	2/2 (100%)	MALDI-TOF-MS	
11	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Number positive	0	2	8	9
Number negative	9	6	0	0
Percent positive	0	25	100	100
Percent negative	100	75	0	0
Consensus value	negativ	negativ	positiv	positiv
Spiking	negativ	negativ	positiv	positiv

##### Methoden:

ASU/IEF = Isoelektrische Fokussierung nach ASU §64 Methode

IEF = Isoelektrische Fokussierung

LC-MS= Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie

MALDI-TOF-MS= Matrix Assisted Laser Desorption Ionization —  
Time of Flight Mass Spectrometry

NGS = Next Generation Sequencing/Amplicon Sequencing

##### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung der Proben 3 und 4.

Zwei Teilnehmer haben mit der verwendeten Methode ASU/IEF ein positives Ergebnis für Probe 2 (81% Büffelmilch-, 10% Kuhmilch- und 9% Schafmilch-Hirtenkäse) erhalten. Beide Teilnehmer weisen darauf hin, dass mit dieser Methode keine Differenzierung zwischen Schaf und Ziege möglich sei. Einem weiteren Teilnehmer gelingt unter Anwendung einer modifizierten ASU/IEF-Methode eine Bewertung aller Proben in Übereinstimmung zur Dotierung der Proben.



## 4.5 Vergleichsuntersuchung Säugernachweis

### 4.5.1 PCR-Ergebnisse: Säuger

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg		
13	positiv	positiv	positiv	positiv	div	

**Methoden:**

div = keine genaue Angabe / andere Methode

## 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 PCR: Büffel

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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	7	positiv	positiv	negativ	negativ	0,5	DNA	Chipron LCD-Array
CP	21	positiv	positiv	negativ	negativ		DNA	Chipron Micro-Array Milk Chip
CP	23	positiv	positiv	negativ	negativ	n.d.		MEAT 5.0, Chipron
CP	25	positiv	positiv	negativ	negativ			
MS	3	positiv	positiv	negativ	negativ		DNA	All Milch, Microsynth
RF	19	positiv	positiv	negativ	negativ	2		ThermoFisher Rapidfinder PCR Kit
SFA-3P	14	negativ	positiv	negativ	negativ	0,01	DNA	SureFood® ANIMAL ID 3plex Water Buffalo/Beef+IAAC
SFA-ID	24	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	SureFood Animal ID Water Buffalo IAAC, R-Biopharm
div	2	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1		
div	9	positiv	positiv	negativ	negativ	0,01	Büffel-DNA	
div	10	negativ	positiv	negativ	negativ	0,5		
div	12	positiv	positiv	negativ	negativ	1	Summe amplifizierbare DNA in 100 ng DNA	biomers
div	13	positiv	positiv	negativ	negativ	< 0,01	DNA	Hausmethode
div	17	positiv	positiv	Spuren	negativ			
div	18	positiv	positiv	negativ	negativ			Hausmethode
div	26	positiv	positiv	negativ	negativ	0,001	DNA	Literaturmethode

## 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	
CP	7	Meat 5.0	Bubalus bubalis	Nach Kitanleitung	
CP	21				
CP	23	A-500-12	16S-rRNA-Gen	Extraktion: Promega Maxwell 16 FFS Nucleic CID Extraction System, Custom	
CP	25			PCR + cheap DNA (chipron)	Geringe DNA-Spuren in Probe 4; generell geringe DNA-Ausbeute
MS	3		EF597572, Bubalis bubalis	DNA Extraktion mit Proteinase K + RNase, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	LOD 2% Milch/Käse
RF	19	IMG-188	Nach Kitanleitung	ThermoFisher RapidFinder GMO Extraction Kit	
SFA-3P	14	Art. No.: S6130		Real Time PCR	
SFA-ID	24	S6117	Bubalus amee	SureFood Prep Basic (S1052)	DNA-Extraktion mittels DNeasy® mericon™ Food Kit
div	2		Cytochrom b Sequenz	Multiplex qPCR system "AllMilk" according to Rentsch, J.; Weibel, S.; Ruf, J.; Eugster, A.; Beck, K.; Köppel R. (2013): Interlaboratory validation of two multiplex quantitative real-time PCR methods to determine species DNA of cow, sheep and goat as a measure of milk proportions in cheese. Eur. Food Res. Technol. 336:217-227	
div	9		Cytochrom b		
div	10			PCR end point	
div	12	Rüggeberg H. (2013), Huber I. (2016)	Lactoferrin-Gen	Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit, Promega	
div	13		mitochondrial	Real Time PCR, 45 Zyklen	
div	17		cyt B	Real-Time PCR	
div	18			Proteinase/ Silika-Säulchen/Real-Time PCR	
div	26	Literaturmethode	mt D-loop Kontrol Region	CTAB.lysis+Prot. K+ Phenol:Chloroform+ Chloroform+ Isopropanol-Fällung+ FFS-Kit (Promega; Maxwell)	

**5.1.2 PCR: Kuh***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	7	positiv	negativ	positiv	negativ	0,5	DNA	Chipron LCD-Array
CP	21	positiv	positiv	positiv	negativ		DNA	Chipron Micro-Array Milk Chip
CP	23	positiv	positiv	positiv	negativ	5	Lysat-Mischung	MEAT 5.0, Chipron
CP	25	positiv	positiv	positiv	negativ			
GI	8	positiv	positiv	positiv	negativ	1	andere: Lebensmittel	GEN-IAL® First-Cattle PCR Kit
GI	14	positiv	positiv	positiv	negativ	0,01	DNA	GEN-IAL First-Beef-PCR-Kit
GI	15	positiv	negativ	positiv	negativ	0,1		GEN-IAL First-beef Kit
MS	3	positiv	negativ	positiv	negativ		DNA	All Milch, Microsynth
MS	20	positiv	positiv	positiv	negativ	0,001	DNA	AllMilch-PCR gemäß Rentsch et al. 2013 (European Food Research and Technology)
RF	19	positiv	positiv	positiv	negativ	2		ThermoFisher Rapidfinder PCR Kit
SFA-4P	24	positiv	positiv	positiv	negativ	0,1	Fleisch	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat + IAAC, R-Biopharm
div	2	positiv	positiv	positiv	negativ	0,1	relativer DNA-Anteil	
div	9	positiv	positiv	positiv	negativ	0,01	Kuh-DNA	
div	10	positiv	positiv	positiv	negativ	0,5		
div	12a	positiv	positiv	positiv	negativ			
div	12b	positiv	positiv	positiv	negativ	0,5	Summe amplifizierbare DNA in 100 ng DNA	biomers
div	13	positiv	positiv	positiv	negativ	< 0,01	DNA	Hausmethode
div	17	positiv	positiv	positiv	negativ			
div	18	positiv	positiv	positiv	negativ			Hausmethode
div	26	positiv	negativ	positiv	negativ	0,001	DNA	Literaturmethode

## 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	
CP	7	Meat 5.0	Bos spez.	Nach Kitanleitung	DNA-Extraktion mittels DNeasy® mericon™ Food Kit
CP	21				Rinder-DNA in Probe 2 in Spuren
CP	23	A-500-12	16S-rRNA-Gen	Extraktion: Promega Maxwell 16 FFS Nucleic CID Extraction System, Custom	
CP	25			PCR + cheap DNA (chipron)	Protokoll 1, 200mg Einwaage
GI	8	5207082		SureFood® PREP Advanced, S1053	
GI	14	10004677 romer labs	Rind (bos taurus) spezifisches Beta-Actin-Gen, 96 bp	Real Time PCR	
GI	15			GEN-IAL Simplex Easy Spin Food Kit	
MS	3		AY526085, Bos taurus mitoch.	DNA Extraktion mit Proteinase K + RNase, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
MS	20			200 mg Einwaage, Extraktion: Macherey&Nagen NucleoSpin Food Kit, QuantiNoxa Multiplex PCR-Kit (Qiagen), 40 Zyklen	
RF	19	A24391	Nach Kitanleitung	ThermoFisher RapidFinder GMO Extraction Kit	bei Probe 4 wurde Kuhmilch in Spuren nachgewiesen > 0,01 %
SFA-4P	24	S6121	Bos taurus	SureFood Prep Basic (S1052)	
div	2		tRNA-Lys sequence	Multiplex qPCR system "AllMilk" according to Rentsch, J.; Weibel, S.; Ruf, J.; Eugster, A.; Beck, K.; Köppel R. (2013): Interlaboratory validation of two multiplex quantitative real-time PCR methods to determine species DNA of cow, sheep and goat as a measure of milk proportions in cheese. Eur. Food Res. Technol. 336:217-227	
div	9		Cytochrom b		
div	10				LOD 2% Milch/Käse
div	12a	International Journal of Food Science and Technology 2007, 42, 9-17	zyklisches GMP-Phosphodiesterase-Gen vom Rind		
div	12b	Eur Food Res Technol (2013) 236:217-227	beta-Actin-Gen	Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit, Promega	
div	13		mitochondrial	Real Time PCR, 45 Zyklen	
div	17		ACC.: EH170825	Real-Time PCR	
div	18			Proteinase/ Silika-Säulchen/Real-Time PCR	
div	26	Literaturmethode	beta-Actin	CTAB.lysis+Prot. K+ Phenol:Chloroform+ Chloroform+ Isopropanol-Fällung+ FFS-Kit (Promega; Maxwell)	

**5.1.3 PCR: Schaf***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	7	negativ	positiv	negativ	positiv	0,5	DNA	Chipron LCD-Array
CP	21	negativ	positiv	negativ	positiv		DNA	Chipron Micro-Array Milk Chip
CP	23	negativ	positiv	negativ	positiv	n.d.		MEAT 5.0, Chipron
CP	25	negativ	positiv	negativ	positiv			
GI	8	negativ	positiv	negativ	positiv	1	andere: Lebensmittel	GEN-IAL® First-Sheep PCR Kit
GI	14	negativ	positiv	negativ	positiv	0,01	DNA	GEN-IAL First-Sheep-PCR-Kit
GI	15	negativ	negativ	negativ	positiv	0,1		GEN-IAL First-sheep Kit
MS	3	negativ	positiv	negativ	positiv		DNA	All Milch, Microsynth
MS	20	negativ	positiv	negativ	positiv	0,005	haploide Genomkopien	AllMilk-PCR gemäß Rentsch et al. 2013 (European Food Research and Technology)
RF	19	negativ	positiv	negativ	positiv	2		ThermoFisher Rapidfinder PCR Kit
SFA-4P	24	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	Fleisch	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat + IAAC, R-Biopharm
div	2	negativ	positiv	negativ	positiv	0,1	relativer DNA-Anteil	
div	9	negativ	positiv	negativ	positiv	0,01	Kuh-DNA	
div	10	positiv	positiv	positiv	positiv	0,5		
div	12	negativ	positiv	negativ	positiv	1	Summe amplifizierbare DNA in 100 ng DNA	biomers
div	13	negativ	positiv	negativ	positiv	< 0,01	DNA	Hausmethode
div	17	negativ	positiv	negativ	Spuren			
div	18	negativ	positiv	negativ	positiv			Hausmethode
div	26	negativ	positiv	negativ	positiv	0,001	DNA	Literaturmethode

## 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	
CP	7	Meat 5.0	Ovis aries	Nach Kitanleitung	
CP	21				
CP	23	A-500-12	16S-rRNA-Gen	Extraktion: Promega Maxwell 16 FFS Nucleic CID Extraction System, Custom	
CP	25			PCR + cheap DNA (chipron)	
GI	8	5207086		SureFood® PREP Advanced, S1053	Protokoll 1, 200mg Einwaage
GI	14	10001248 romer labs	schaf (ovis aries) spezifisches zyklisches GMP-Phosphodiesterase-Gen, 97bp	Real Time PCR	
GI	15			GEN-IAL Simplex Easy Spin Food Kit	
MS	3		Cytb DQ459341	DNA Extraktion mit Proteinase K + RNase, Clean Up mit Chloroform und Säulchen /Amplif m RealTime PCR 45 Zyklen	
MS	20			201 mg Einwaage, Extraktion: Macherey&Nagen NucleoSpin Food Kit, QuantiNoxa Multiplex PCR-Kit (Qiagen), 40 Zyklen	
RF	19	A24395	Nach Kitanleitung	ThermoFisher RapidFinder GMO Extraction Kit	LOD 2% Milch/Käse
SFA-4P	24	S6121	Ovis aries	SureFood Prep Basic (S1052)	QE zu Springbock (Antidorcas marsupialis) 100 %
div	2		Cytochrom b Sequenz	Multiplex qPCR system "AllMilk" according to Rentsch, J.; Weibel, S.; Ruf, J.; Eugster, A.; Beck, K.; Köppel R. (2013): Interlaboratory validation of two multiplex quantitative real-time PCR methods to determine species DNA of cow, sheep and goat as a measure of milk proportions in cheese. Eur. Food Res. Technol. 336:217-227	DNA-Extraktion mittels DNeasy® mericon™ Food Kit
div	9		Cytochrom b		
div	10				
div	12	International Journal of Food Science and Technology 2007, 42, 9-17	zyklisches GMP-Phosphodiesterase-Gen vom Lamm	Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit, Promega	
div	13		mitochondrial	Real Time PCR, 45 Zyklen	
div	17		Prolaktin Rezeptor	Real-Time PCR	
div	18			Proteinase/ Silika-Säulchen/Real-Time PCR	
div	26	Literaturmethode	Cytochrom b	CTAB.lysis+Prot. K+ Phenol:Chloroform+ Chloroform+ Isopropanol-Fällung+ FFS-Kit (Promega; Maxwell)	

**5.1.4 PCR: Ziege***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	7	negativ	negativ	positiv	positiv	0,5	DNA	Chipron LCD-Array
CP	21	negativ	negativ	positiv	positiv		DNA	Chipron Micro-Array Milk Chip
CP	23	negativ	negativ	positiv	positiv	n.d.		MEAT 5.0, Chipron
CP	25	negativ	positiv	positiv	positiv			
GI	8	negativ	positiv	positiv	positiv	1	andere: Lebensmittel	GEN-IAL® First-Goat PCR Kit
GI	14	positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	DNA	GEN-IAL First-Goat-PCR-Kit
GI	15	negativ	positiv	positiv	positiv	0,1		GEN-IAL First-goat Kit
MS	3	negativ	negativ	positiv	positiv		DNA	All Milch, Microsynth
MS	20	negativ	negativ	positiv	positiv	0,002	haploide Genomkopien	AllMilk-PCR gemäß Rentsch et al. 2013 (European Food Research and Technology)
RF	19	negativ	negativ	positiv	positiv	2		ThermoFisher Rapidfinder PCR Kit
SFA-4P	24	negativ	negativ	positiv	positiv	0,1	Fleisch	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat + IAAC, R-Biopharm
div	2	negativ	negativ	positiv	positiv	0,1	relativer DNA-Anteil	
div	9	negativ	positiv	positiv	positiv	0,01	Ziegen-DNA	
div	10	negativ	negativ	positiv	positiv	0,5		
div	12a	negativ	positiv	positiv	positiv			
div	12b	negativ	positiv	positiv	positiv	1	Summe amplifizierbare DNA in 100 ng DNA	biomers
div	13	negativ	negativ	positiv	positiv	< 0,01	DNA	Hausmethode
div	17	negativ	positiv	positiv	positiv			
div	18	negativ	negativ	positiv	positiv			Hausmethode
div	26	negativ	negativ	positiv	positiv	0,001	DNA	Literaturmethode



## Weitere Angaben zu den Methoden

RF	19	IMG-175	Nach Kitanleitung	ThermoFisher RapidFinder GMO Extraction Kit	LOD 2% Milch/Käse
SFA-4P	24	S6121	Capra hircus	SureFood Prep Basic (S1052)	
div	2		Cytochrom b Sequenz	Multiplex qPCR system "AllMilk" according to Rentsch, J.; Weibel, S.; Ruf, J.; Eugster, A.; Beck, K.; Köppel R. (2013): Interlaboratory validation of two multiplex quantitative real-time PCR methods to determine species DNA of cow, sheep and goat as a measure of milk proportions in cheese. Eur. Food Res. Technol. 336:217-227	DNA-Extraktion mittels DNeasy® mericon™ Food Kit
div	9				
div	10				
div	12a	Eur Food Res Technol (2013) 236:217–227 ;	Wachstumshormon-Rezeptor-Gen;		
div	12b	International Journal of Food Science and Technology 2007, 42, 9-17	Zyklisches GMP Phosphodiesterase Gen	Maxwell® RSC PureFood GMO and Authentication Kit, Promega	
div	13		mitochondrial	Real Time PCR, 45 Zyklen	Probe 2 Spuren Ziege < 0,5%
div	17		Wachstumshormon Rezeptor	Real-Time PCR	
div	18			Proteinase/ Silika-Säulchen/Real-Time PCR	
div	26	Literaturmethode	Cytochrom b	CTAB.lysis+Prot. K+ Phenol:Chloroform+ Chloroform+ Isopropanol-Fällung+ FFS-Kit (Promega; Maxwell)	

**5.1.5 PCR: Säuger**

## 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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	13	positiv	positiv	positiv	positiv	< 0,01	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.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
div	13		mitochondrial	Real Time PCR, 45 Zyklen	

**5.1.6 Andere Methoden: Büffel***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU/IEF	5	positiv	positiv	negativ	negativ	10		ASU L 01.00-39
ASU/IEF	6	positiv	positiv	negativ	negativ	1	Protein	
ASU/IEF	7	positiv	positiv	negativ	negativ	2	Lebensmittel	PAGIF/ASU mod.
IEF	1	positiv	positiv	negativ	negativ	ca. 3	Büffelmilchcasein	
IEF	10	negativ	positiv	negativ	negativ	1	Isoelektrische Fokussierung	Isoelektrische Fokussierung
LC-MS	22	positiv	positiv	negativ	negativ	1	Lebensmittel	target proteomic analysis
NGS	11	positiv	positiv	negativ	negativ	0,1	Reads der jeweiligen Tierart bezogen auf Gesamtanzahl der Reads	NGS Amplikon Sequenzierung (Dobrowolny et al., 2019)

*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	
ASU/IEF	5	ASU L 01.00-39			Bisher wird keine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch vorgenommen; Nachweisgrenze angegeben als Milchanteil
ASU/IEF	6	ASU L 01.00-39		Isoelektrische Fokussierung	
ASU/IEF	7	L01.00-39		mod.: 500 µl Ampholyte pH 6-7, Färbelösung 1 und 2 mit Phosphorsäure und Aluminiumsulfathydrat, Entfettung der Proteine mit Aceton	
IEF	1			Isoelektrische Fokussierung	visuelle Auswertung
IEF	10				
LC-MS	22		kappa-casein	Extraction with urea+thiourea+TRIS, acetone precipitation, trypsin digestion, LC-MS/MS	
NGS	11		16S ribosomale DNA	DNA-Extraktion: CTAB-Maxwell 16 FFS	

## 5.1.7 Andere Methoden: Kuh

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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU/IEF	5	positiv	positiv	positiv	negativ	10		ASU L 01.00-39
ASU/IEF	6	positiv	positiv	positiv	negativ	1	Protein	
ASU/IEF	7	positiv	negativ	positiv	negativ	2	Lebensmittel	PAGIF/ASU mod.
IEF	1	positiv	positiv	positiv	negativ	ca. 1	Kuhmilchcasein	
IEF	4	positiv	positiv	positiv	negativ	2		IEF, Fertiggeleplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)
IEF	10	positiv	positiv	positiv	negative	1	Isoelektrische Fokussierung	Isoelektrische Fokussierung
LC-MS	22	positiv	positiv	positiv	negativ	1	Lebensmittel	target proteomic analysis
MALDI-TOF-MS	20	positiv	positiv	positiv	negativ	<1,8%	Protein	OS-Extraktion (Bruker), modifiziert
NGS	11	positiv	positiv	positiv	negativ	0,1	Reads der jeweiligen Tierart bezogen auf Gesamtanzahl der Reads	NGS Amplikon Sequenzierung (Dobrovolny et al., 2019)
RS	2	positiv	positiv	positiv	negativ	0,1	Kuhmilch in Schafs- und Ziegenkäse bzw. Milch	RIDASCREEN CIS der Firma r-biopharm
RS	16	positiv	positiv	positiv	negativ	0,1	Kuhmilchanteil/Milch kleiner Wdk	r-biopharm Ridascreeen CIS

## 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	
ASU/IEF	5	ASU L 01.00-39			Bisher wird keine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch vorgenommen; Nachweisgrenze angegeben als Milchanteil
ASU/IEF	6	ASU L 01.00-39		Isoelektrische Fokussierung	
ASU/IEF	7	L01.00-39		mod.:500 µlAmpholyte ph 6-7, Färbelösung 1 und 2 mit Phosphorsäure und Aluminiumsulfathydrat, Entfettung der Proteine mit Aceton	
IEF	1			Isoelektrische Fokussierung	visuelle Auswertung
IEF	4				Keine Unterscheidung zwischen Büffel und Kuh
IEF	10				
LC-MS	22		kappa-casein	Extraktion mit urea+thiourea+ TRIS, Aceton Precipitation, Trypsin Verdau, LC-MS/MS	
MALDI-TOF-MS	20			MALDI-TOF Hausmethode, qualitativ	
NGS	11		16S ribosomale DNA	DNA-Extraktion: CTAB-Maxwell 16 FFS	
RS	2	R4302			
RS	16	R4302	bovines IgG	Charge 15128	

**5.1.8 Andere Methoden: Schaf***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU/IEF	5	negativ	negativ	negativ	positiv	10		ASU L 01.00-39
ASU/IEF	6	negativ	positiv	positiv	positiv	1	Protein	
ASU/IEF	7	negativ	positiv	negativ	positiv	2	Lebensmittel	PAGIF/ASU mod.
IEF	1	negativ	positiv	negativ	positiv	ca. 3	Schafmilchcasein	
IEF	4	negativ	positiv	negativ	positiv	5		IEF, Fertiggelplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)
IEF	10	positiv	positiv	positiv	positiv	1	Isoelektrische Fokussierung	Isoelektrische Fokussierung
LC-MS	22	negativ	positiv	negativ	positiv	1	Lebensmittel	target proteomic analysis
MALDI-TOF-MS	20	negativ	positiv	negativ	positiv	0,025	Protein	OS-Extraktion (Bruker), modifiziert
NGS	11	negativ	positiv	negativ	positiv	0,1	Reads der jeweiligen Tierart bezogen auf Gesamtanzahl der Reads	NGS Amplikon Sequenzierung (Dobrovoly et al., 2019)

*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	
ASU/IEF	5	ASU L 01.00-39			Bisher wird keine Unterscheidung von Schaf- und Ziegenmilch vorgenommen; Nachweisgrenze angegeben als Milchanteil
ASU/IEF	6	ASU L 01.00-39		Isoelektrische Fokussierung	Schafmilchprotein/Ziegenmilchprotein mit Methodik nicht voneinander zu differenzieren
ASU/IEF	7	L01.00-39		mod.:500 µl Ampholyte ph 6-7, Färbelösung 1 und 2 mit Phosphorsäure und Aluminiumsulfathydrat, Entfettung der Proteine mit Aceton	
IEF	1			Isoelektrische Fokussierung	visuelle Auswertung
IEF	4				
IEF	10				
LC-MS	22		kappa-casein	Extraction with urea+thiourea+TRIS, acetone precipitation, trypsin digestion, LC-MS/MS	
MALDI-TOF-MS	20			MALDI-TOF Hausmethode, qualitativ	
NGS	11		16S ribosomale DNA	DNA-Extraktion: CTAB-Maxwell 16 FFS	

**5.1.9 Andere Methoden: Ziege***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	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU/IEF	5	negativ	positiv	positiv	positiv	10		ASU L 01.00-39
ASU/IEF	6	negativ	positiv	positiv	positiv	1	Protein	
ASU/IEF	7	negativ	negativ	positiv	positiv	2	Lebensmittel	PAGIF/ASU mod.
IEF	1	negativ	negativ	positiv	positiv	ca. 3	Ziegenmilchcasein	
IEF	4	negativ	negativ	positiv	positiv	5		IEF, Fertiggelplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)
IEF	10	negativ	negativ	positiv	positiv	1	Isoelektrische Fokussierung	Isoelektrische Fokussierung
LC-MS	22	negativ	negativ	positiv	positiv	1	Lebensmittel	target proteomic analysis
MALDI-TOF-MS	20	negativ	-	-	positiv	keine	Protein	OS-Extraktion (Bruker), modifiziert
NGS	11	negativ	negativ	positiv	positiv	0,1	Reads der jeweiligen Tierart bezogen auf Gesamtanzahl der Reads	NGS Amplikon Sequenzierung (Dobrovlny et al., 2019)

*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	
ASU/IEF	5	ASU L 01.00-39			Bisher wird keine Unterscheidung von Schaf- und Ziegenmilch vorgenommen; Nachweisgrenze angegeben als Milchanteil
ASU/IEF	6	ASU L 01.00-39		Isoelektrische Fokussierung	Schafmilchprotein/Ziegenmilchprotein mit Methodik nicht voneinander zu differenzieren
ASU/IEF	7	L01.00-39		mod.:500 µlAmpholyte ph 6-7, Färbelösung 1 und 2 mit Phosphorsäure und Aluminiumsulfathydrat, Entfettung der Proteine mit Aceton	
IEF	1			Isoelektrische Fokussierung	visuelle Auswertung
IEF	4				
IEF	10				
LC-MS	22		kappa-casein	Extraktion mit Urea+Thiourea+TRIS, Aceton Precipitation, Trypsin Verdau, LC-MS/MS	
MALDI-TOF-MS	20			MALDI-TOF Hausmethode, qualitativ	
NGS	11		16S ribosomale DNA	DNA-Extraktion: CTAB-Maxwell 16 FFS	

**5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**

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

**Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**

EP-Nummer	<b>DLA 45-2019</b>
EP-Name	<b>Tierarten-Screening III – 4 Proben qualitativ: Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch in Milchprodukt (Käse)</b>
Probenmatrix	<b>Proben 1-4: Milchprodukte (Hirtenkäse, gefriergetrocknet)</b>
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/Matrix	qualitativ: <b>Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch</b> Proben 1-4: ca. 5-95%
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 Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
Abgabetermin	<b>spätestens 18. Oktober 2019</b>
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. 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
		ÖSTERREICH
		DEUTSCHLAND
		SCHWEIZ
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		TSCHECHIEN
		FRANKREICH
		DEUTSCHLAND
		ÖSTERREICH
		DEUTSCHLAND
		ITALIEN
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		ÖSTERREICH
		GROSSBRITANNIEN
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		DEUTSCHLAND
		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. ASU nach § 35 LMBG Untersuchung von Lebensmitteln: Nachweis der Tierart bei Milch, Milchprodukten und Käse mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung (PAGIF). Methode L 01.00-39 (1995)



21. Meister, A., Janzen, H., Kauer, T., Schiffer, B., & Schlicht, C. PAGIF method to verify animal species in dairy products: improved separation performance, sensitivity and efficiency. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14(4), 421-428 (2019)

### **DLA 45/2019 - Tierarten-Screening III**

Von 26 Teilnehmern haben alle mindestens ein PCR-Ergebnis oder ein Ergebnis einer anderen Methode eingereicht. Die Auswertung der 4 Proben erfolgte rein qualitativ hinsichtlich der Parameter Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch. 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.

8 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Frankreich, Österreich, Schweiz, Tschechien).