



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL05 (2020)

Allergene V:

Erdnuss und Mandel

in Backware (Kakaokekse)

DLA - Proficiency Tests GmbH

Kalte Weide 21

24641 Sievershütten/Germany

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

Koordinator der LVU:

Dr. Matthias Besler-Scharf

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 ptAL05 (2020)
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (5. Januar 2021)</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: 5. Januar 2021</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination</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.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S*/opt.....	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Erdnuss.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss.....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss.....	31
4.2 Vergleichsuntersuchung Mandel.....	33
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Mandel.....	33
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Mandel.....	43
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	44
5. Dokumentation.....	46
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	46
5.1.1 ELISA: Erdnuss.....	46
5.1.2 ELISA: Mandel.....	47
5.1.3 PCR: Erdnuss.....	48
5.1.4 PCR: Mandel.....	48
5.2 Homogenität.....	49
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	49
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	50
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	51
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	52

1. Einleitung

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

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

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

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden zwei verschiedene LVU-Proben mit gleicher Lebensmittelmatrix für den Nachweis und die quantitative Bestimmung der Allergene im mg/kg-Bereich und eine Dotierungsniveauprobe mit einfacher Matrix zur Verfügung gestellt. Einer der beiden LVU-Proben (dotierte Probe) sowie der Dotierungsniveauprobe wurden die betreffenden allergenen Zutaten in ähnlichem Konzentrationsbereich zugesetzt. Die Untersuchungsergebnisse der Dotierungsniveauprobe sollen im Vergleich zur dotierten LVU-Probe die Möglichkeit geben, die Nachweisbarkeit der Allergene ohne und mit Einfluss der Lebensmittelmatrix bzw. -prozessierung zu charakterisieren.

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um handelsübliche Kakao-Kekse. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Als weitere Zutat wurden Kekse mit dem Dotierungsmaterial gebacken (150°C, 30 min), das die allergenen Zutaten Erdnuss und Mandel enthält, und anschließend getrocknet (50°C, über Nacht). Nach Zerkleinerung, Sieben (mesh 1,0 mm) und Homogenisierung wurde der die allergenen Zutaten enthaltende, gebackene Keks zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in zwei weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

Die Proben A und B wurden zu Portionen von ca. 25 g und die Dotierungsniveauprobe von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Kakaoekse Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Palmöl, Glukosesirup, fettarmes Kakaopulver (3,8%), Backtriebmittel: Natriumcarbonate, Diphosphate; Salz, Apfelextrakt, Magermilchpulver, Emulgator: Lecithine (Soja); Aromen, Säuerungsmittel: Citronensäure; Stärke (Weizen), Hühnervolleipulver. Nährwertangaben pro 100 g: Fett 14 g, Kohlenhydrate 69 g, Eiweiß 7,6 g	100 g/100 g	94,5 g/100g	-
Kekse (gebacken 150°C, 30 min) Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Butter, Eier, Kakaopulver, Salz sowie Erdnüsse, Mandeln und weitere Zutaten (siehe unten)	-	5,47 g/100 g	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100 g
<i>Erdnüsse, geröstet</i> gemahlen, Mischung (18 Produkte aus USA, Asien, Afrika, Südamerika) - als Erdnuss* - davon 23,2% Gesamtprotein**	-	30,4 mg/kg 7,06 mg/kg	21,3 mg/kg 4,94 mg/kg
<i>Mandel, geröstet</i> gemahlen, Mischung (23 Produkte aus USA, Europa, Australien, Vorderasien) - als Mandeln* - davon 21,1% Gesamtprotein**	-	33,5 mg/kg 7,07 mg/kg	20,2 mg/kg 4,27 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> <i>Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid</i>	-	<0,3 g/100 g	<0,3 g/100 g

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

** Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=5,46 für Erdnussprotein und F=5,18 für Mandelprotein)

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe B und der Dotierungsniveauprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 92% bzw. 98% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,87 bzw. 0,65 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

Durchführung der Homogenitätstests

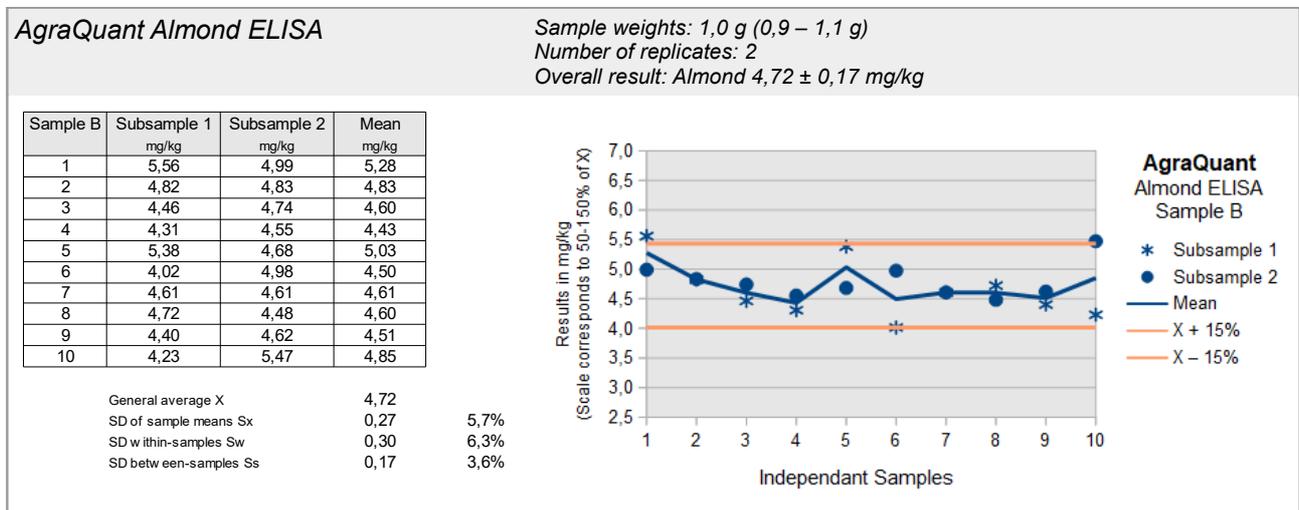
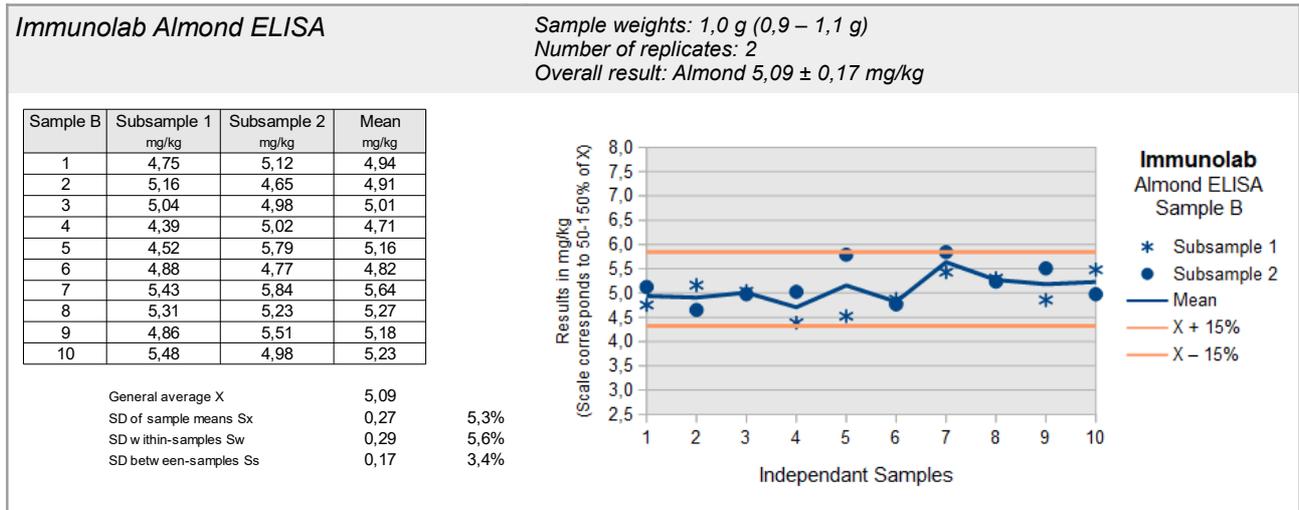
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur Analyse zugeschickt. Die Einwaagen wurden mit einer Abweichung von $\pm 10\%$ von der Solleinwaage der Testkit-Anleitung vorgenommen und den Labors nicht mitgeteilt. Nach Übersendung der Analysenergebnisse durch die Labors wurden die gültigen Ergebnisse anhand der exakten Einwaagen von DLA berechnet und die statistische Berechnung gemäß ISO 13528:2015 Anhang B (ggf. inkl. Anmerkungen 1 u. 2) vorgenommen.

Bewertung der Homogenität

Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $S_s \leq 15\%$ („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests für Erdnuss (Immunolab und AgraQuant) sowie Mandel (Immunolab, AgraQuant) erfüllt (s. Seite 7). Die Anforderung an Wiederholstandardabweichungen von ELISA- und PCR-Verfahren ist üblicherweise $\leq 25\%$ [18, 19, 22, 23].

Falls die Kriterien für eine ausreichende Homogenität des Probenmaterials bezüglich eines Parameters nicht erfüllt sind, werden die Auswirkungen auf die Zielstandardabweichung geprüft. Ggf. erfolgt die Bewertung der Ergebnisse der Teilnehmer unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes anhand von z'-Scores (s. 3.6 und 3.8) [3].

ELISA-Tests: Homogenität Mandel / Homogeneity Almond



2.1.2 Stabilität

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

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,33$ und $0,43$ (25°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 37. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 06. November 2020.

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

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

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene Gehalte an allergenen Zutaten in mg/kg z.B. als allergenes Lebensmittel oder Protein.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, Bestimmungsgrenzen, Testkit-Hersteller und Stichpunkte zur Durchführung der Methoden.

Falls Teilnehmer mehrere Ergebnisse für denselben Parameter abgegeben haben, die mit unterschiedlichen Methoden erhalten wurden, wurden diese Ergebnisse mit derselben Auswertenummer mit einem Buchstaben als Suffix unter Angabe der jeweiligen Methode ausgewertet.

Alle 15 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [25, 26, 27, 28]. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse, wenn möglich in der Auswertung verschiedenen Bezugswerten gegenübergestellt.

Dadurch soll jedes einzelne Ergebnis im Vergleich mit dem Mittelwert aller eingesandten Ergebnisse und/oder im Vergleich mit dem Mittelwert der Ergebnisse derselben Methode bewertet werden können. Zum Vergleich mit der rechnerisch zugesetzten Menge wurde das Zusatzniveau in den graphischen Darstellungen der Ergebnisse mit angegeben.

Für quantitative Ergebnisse der Dotierungsniveauprobe und der dotierten Probe wurden anhand der bekannten Zusammensetzung Wiederfindungsraten berechnet und zur Information angegeben. Hierbei erfolgte keine statistische Auswertung. Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen ausschließlich einer Einschätzung von Matrix- und/oder Prozessierungseinflüssen.

Die ELISA- und PCR-Ergebnisse wurden qualitativ anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern $\geq 75\%$ positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt.

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

Für die Auswertung wurde als zugewiesener Wert (X_{pt}) der **robuste Mittelwert** der eingesandten Ergebnisse verwendet („Konsenswert der Teilnehmer“). Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3]. Liegen < 12 quantitative Ergebnisse und eine erhöhte Differenz zwischen robustem Mittelwert und Median vor, ist ggf. der **Median** als zugewiesener Wert zu verwenden (Kriterium: Δ Median - rob. Mittelwert $> 0,3 \sigma_{pt}$) [3].

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

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

Bei den Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen wird, wenn möglich, stets so vorgegangen:

- i) **Zugewiesener Wert aller Ergebnisse** - X_{ptALL}
- ii) **Zugewiesener Wert von Einzelmethoden** - $X_{ptMETHOD i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder $< 2,5$ mg/kg) oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung generell nicht berücksichtigt [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

Zum Vergleich mit der Zielstandardabweichung σ_{pt} (Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) wird die robuste Standardabweichung (S^*) verwendet. Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3].

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

- i) **Robuste Standardabweichung aller Ergebnisse** - S^*_{ALL}
- ii) **Robuste Standardabweichung von Einzelmethode** - $S^*_{METHOD\ i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen, zu geringe Anzahl signifikanter Stellen (gültige Ziffern) oder Angaben für einen falschen Prüfgegenstand vorliegen [2]. Auch wenn ein Ergebnis z.B. mit einem Faktor >10 deutlich vom Mittelwert abweicht und einen Einfluss auf die robuste Statistik hat, kann ein Ergebnis von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden [3].

Alle Ergebnisse sollen mit mindestens 2 signifikanten Stellen (gültige Ziffern) angegeben werden. Die Angabe von 3 Stellen ist i.d.R. ausreichend.

Ergebnisse, die mit unterschiedlichen Verfahren erhalten wurden und zu einer erhöhten Variabilität und/oder zu einer bi- oder mehrmodalen Verteilung der Ergebnisse führen, werden separat behandelt oder, wenn dafür zu wenige Ergebnisse vorliegen, ausgeschlossen. Hierfür erfolgt die Prüfung der Ergebnisse anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Auf Ausreißer wird mittels robuster Statistik (Algorithmus A) geprüft: Ergebnisse, die um mehr als das Dreifache der robusten Standardabweichung vom robusten Mittelwert abweichen, können danach als Ausreißer eingestuft werden [3]. Aufgrund der Anwendung der robusten Statistik werden Ausreißer i.d.R. nicht von der Auswertung ausgeschlossen, sofern keine anderen Gründe vorliegen (s.o.) [3]. Ermittelte Ausreißer werden im Ergebnisteil nur genannt, wenn sie von der statistischen Auswertung ausgeschlossen wurden.

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

In der vorliegenden LVU wurde die Zielstandardabweichung nach 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen ermittelt.

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung σ_R abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung σ_R kann als relative Zielstandardabweichung σ_{pt} in % des zugewiesenen Wertes verwendet werden und nach untenstehenden Gleichungen berechnet werden [3]. Dabei wird für die Konzentration c der zugewiesene Wert X_{pt} eingesetzt.

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

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

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

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

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

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

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 - 33% für die ELISA-Methoden und 12 - 42% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [24]. Es wurden 12 Lebensmittelproben mit Gliadinegehalten im Bereich von 0 - 168 mg/kg von 20 Laboratorien untersucht. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 65 und 110%, die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 13 - 25% (1. Methode) bzw. 11 - 22% (2. Methode) und die relativen Vergleichsstandardabweichungen bei 23 - 47% (1. Methode) bzw. 25 - 33% (2. Methode). Laut den Autoren erfüllten beide ELISA-Test-Kits damit die Validierungskriterien für ELISA Methoden [24].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [27]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

Tabelle 2b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [32-35]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD	RSD_r	RSD_R	opt	Methode / Literatur
Erdnuss	Reiskekse	23,4 5,19	113 % 99,7 %	15,6% 15,0%	11,6% 14,7%	14,4% 18,1%	11,8% 14,8%	rt-PCR ASU 00.00-169
Erdnuss	Weizenkekse (DLA)	1,97	39,3 %	16,2%	16,0%	19,5%	15,8%	rt-PCR ASU 00.00-169
Erdnuss	Milchpulver Brühwurst	3,66 2,44	73,2 % 49,4 %	15,8% 15,6%	12,8% 11,9%	14,8% 15,9%	11,7% 13,5%	rt-PCR ASU 00.00-169
Mandel	Reiskekse	105,2 18,0 10,5	105 % 90 % 105 %	-	19,3% 44,0% 32,0%	27,5% 49,1% 38,8%	23,9% 38,0% 31,5%	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	114,3 88,1	94,6 % 88,1 %	-	22,1% 43,9%	41,8% 43,1%	38,8% - %	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Reiskekse	109 21,3 12,3	109 % 107 % 121 %	-	17,6% 35,8% 32,0%	32,8% 45,0% 47,8%	30,3% 37,2% 42,1%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	120,7 112	98,2 % 94,1 %	-	15,7% 36,2%	32,5% 42,8%	30,5% 34,3%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Reiskekse	89,1 17,3 9,8	89,1 % 86,5 % 98 %	-	34,1% 36,2% 40,2%	34,4% 38,2% 41,8%	24,5% 28,4% 30,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	80,8 42,6	65,7 % 42,6 %	-	25,6% 27,5%	36,4% 39,7%	31,6% 34,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Reiskekse	96,6 14,2	96,6 % 71 %	-	16,8% 54,2%	31,8% 56,5%	29,5% 41,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	76,5 48,4	62,2 % 48,4 %	-	15,6% 34,4%	35,8% 37,5%	34,1% 28,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandardabweichung	Vergleichsstandardabweichung
CAC 2010	± 25% ^(a)	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

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

3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

Zur Bewertung werden nachstehende z-Scores mit einer Zielstandardabweichung von 25% in der Auswertung angegeben:

- i) **z-Score** - **z_{ALL}** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **z_{METHOD i}** (bezogen auf Einzelmethoden)

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< - 3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichmaßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

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

3.6 z'-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S*/ σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

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

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

Die Bezugswerte (zugewiesene Werte und Zusatzniveau) werden als farbige Linien in den Abbildungen der Ergebnisse dargestellt. Dies ermöglicht einen optischen Vergleich der Einzelergebnisse mit den verschiedenen Bezugswerten für das Zusatzniveau eines Analyten einerseits und die robusten Mittelwerte über alle Methoden bzw. über Einzelmethoden andererseits.

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

Die Berechnung der zugehörigen z-Scores erfolgte gemäß 3.5 mit der Zielstandardabweichung von 25% (s. 3.4.3).

4. Ergebnisse

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

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

Die folgenden Ergebnisseiten sind für die allergenen Bestandteile jeweils gleich aufgebaut. Es werden zunächst die Ergebnisse aller ELISA- bzw. PCR-Methoden zu einem Parameter für die Proben A und B (qualitativ und ggf. quantitativ) und danach für die Dotierungsniveauprobe (nur quantitativ) angegeben. Die Wiederfindungsraten der Ergebnisse für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe A oder B werden anschließend behandelt.

Im Ergebnisteil werden alle quantitativen Teilnehmerergebnisse auf 3 signifikante Stellen (gültige Ziffern) formatiert dargestellt. Im Dokumentationsteil sind die Ergebnisse so angegeben wie sie von den Teilnehmern übermittelt wurden.

Um die **Vergleichbarkeit von quantitativen Ergebnissen** zu gewährleisten, wurden Teilnehmerergebnisse mit unterschiedlichen Angaben (z.B. als Protein oder allergenes Lebensmittel) soweit möglich von DLA harmonisiert. Die ELISA-Ergebnisse, die als Erdnuss- und Mandelprotein angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe (s. Seite 5) auf das **Gesamtlebensmittel (Erdnuss, Mandel)** umgerechnet worden.

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

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

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

Auswertenummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{M_i}}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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

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

^o Zielbereich berechnet mit z-Score oder z'-Score

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Erdnuss

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
11	negativ	<1	positiv	13,2	2/2 (100%)	BC	
2a	negativ	<1	positiv	10,2	2/2 (100%)	BK	
8	negativ	<0,86	positiv	13,4	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
3	negativ		positiv	15,6	2/2 (100%)	RS-F	
4	negativ		positiv	21,0	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	<2,5	positiv	20,0	2/2 (100%)	RS-F	
6	negativ		positiv	20,0	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ	<2,5	positiv	14,3	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<2,5	positiv	21,3	2/2 (100%)	RS-F	
14	negativ		positiv	19,2	2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ	<1	positiv	17,0	2/2 (100%)	RS-F	
1	negativ	0	positiv	22,0	2/2 (100%)	SP	
2b	negativ	<2,5	positiv	15,6	2/2 (100%)	VT	
12	negativ		positiv	4,39	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

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

Methoden:

- BC = BioCheck ELISA
- BK = BioKits, Neogen
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Erdnuss [mg/kg]	z-Score X _{pt} ^{ALL}	z-Score X _{pt} ^{RS-F}	Methode	Hinweis
11	13,2	-0,82		BC	
2a	10,2	-1,5		BK	
8	13,4	-0,78		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
3	15,6	-0,24	-0,64	RS-F	
4	21,0	1,1	0,53	RS-F	
5	20,0	0,82	0,31	RS-F	
6	20,0	0,82	0,31	RS-F	
10	14,3	-0,56	-0,92	RS-F	
13	21,3	1,1	0,58	RS-F	
14	19,2	0,63	0,14	RS-F	
15	17,0	0,11	-0,33	RS-F	
1	22,0	1,3		SP	
2b	15,6	-0,24		VT	
12	4,39	-2,9		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- BC = BioCheck ELISA
- BK = BioKits, Neogen
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

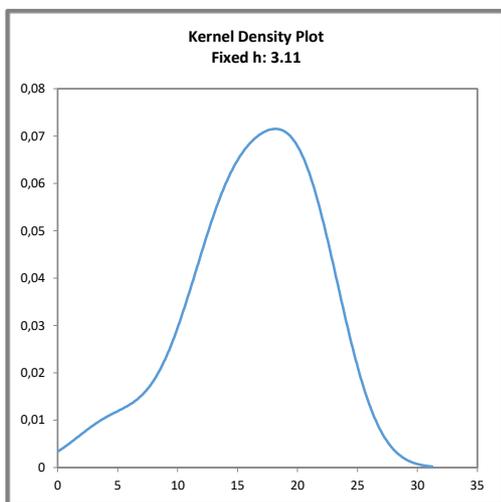


Abb. / Fig. 1:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer leichten Schulter bei $< 7 \text{ mg/kg}$, die auf einen Wert außerhalb des Zielbereiches zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Erdnuss**Probe B**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	14	8
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	16,2	18,5
Median	16,3	19,6
Robuster Mittelwert (X_{pt})	16,6	18,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,66	2,94
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,15	4,64
Untere Grenze des Zielbereichs	8,30	9,27
Obere Grenze des Zielbereichs	24,9	27,8
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	0,63
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,56	1,30
Ergebnisse im Zielbereich	13	8
Prozent im Zielbereich	93	100

Methoden:

RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung.

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 55% bzw. 61% vom Zusatzniveau von Erdnuss zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.30 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Erdnuss").

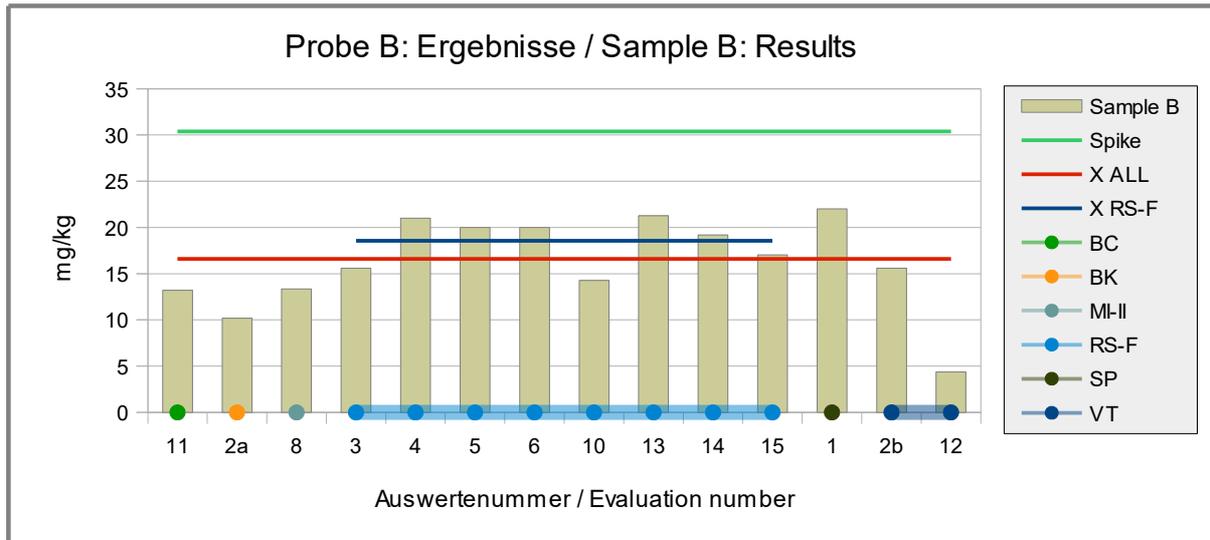


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Erdnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

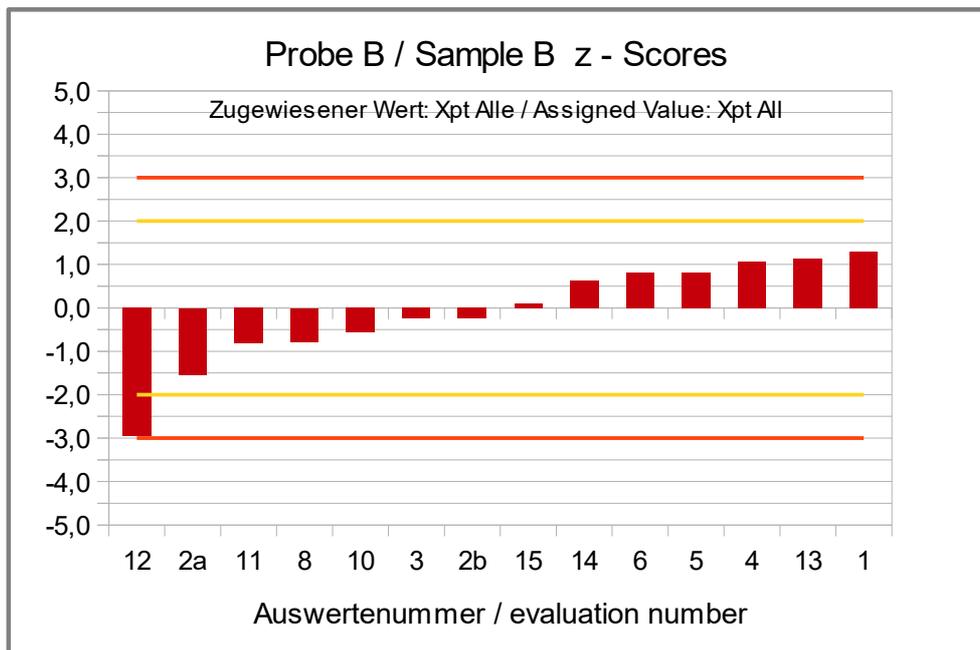


Abb./Fig. 3:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Erdnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

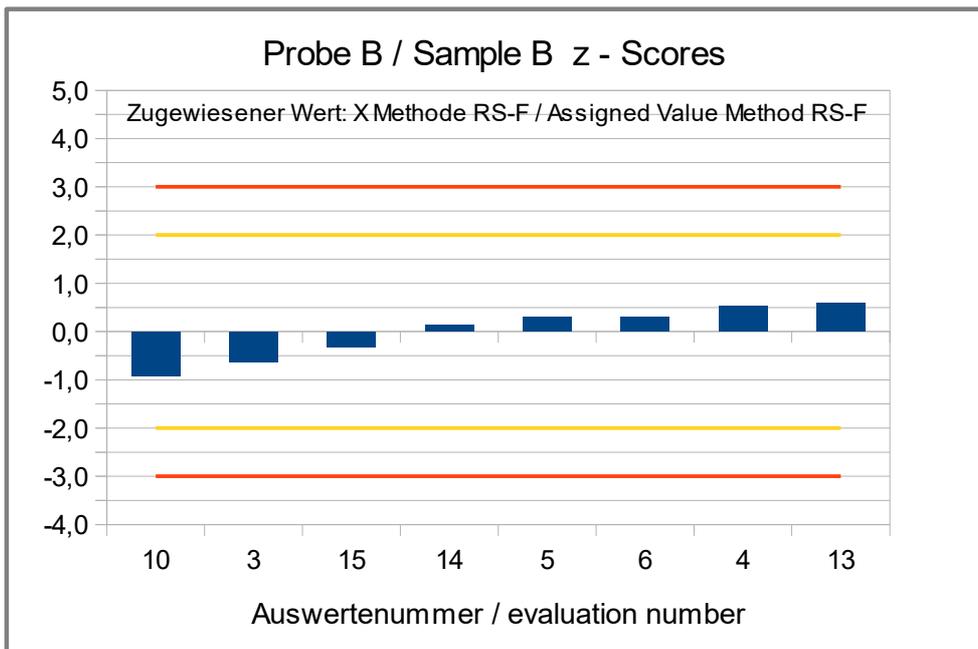


Abb./Fig. 4:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Erdnuss [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
11	39,9	-0,83		BC	
2a	38,0	-0,98		BK	
8	34,1	-1,3		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
3	49,6	-0,06	-0,41	RS-F	
4	52,0	0,14	-0,23	RS-F	
5	44,7	-0,45	-0,76	RS-F	
6	58,0	0,61	0,20	RS-F	
10	45,4	-0,39	-0,71	RS-F	
13	69,6	1,5	1,0	RS-F	
14	58,8	0,68	0,26	RS-F	
15	63,9	1,1	0,62	RS-F	
1	56,0	0,45		SP	
2b	64,8	1,2		VT	
12	8,87	-3,3		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- BC = BioCheck ELISA
- BK = BioKits, Neogen
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

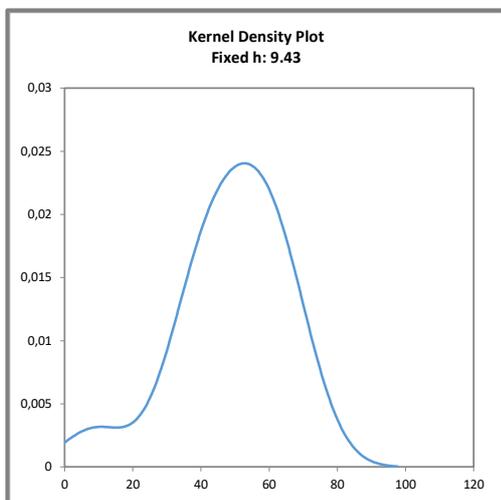


Abb. / Fig. 5:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einem Nebenpeak bei 9 mg/kg, der auf einen Einzelwert außerhalb der Zielbereiches zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Erdnuss**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	14	8
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	48,8	55,2
Median	50,8	55,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	50,3	55,2
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,9	10,1
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	12,6	13,8
Untere Grenze des Zielbereichs	25,1	27,6
Obere Grenze des Zielbereichs	75,4	82,9
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	0,73
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,63	4,44
Ergebnisse im Zielbereich	13	8
Prozent im Zielbereich	93	100

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung.

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 236% bzw. 259% vom Zusatzniveau von Erdnuss zur Dotierungsniveauprobe deutlich oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.30 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Erdnuss").

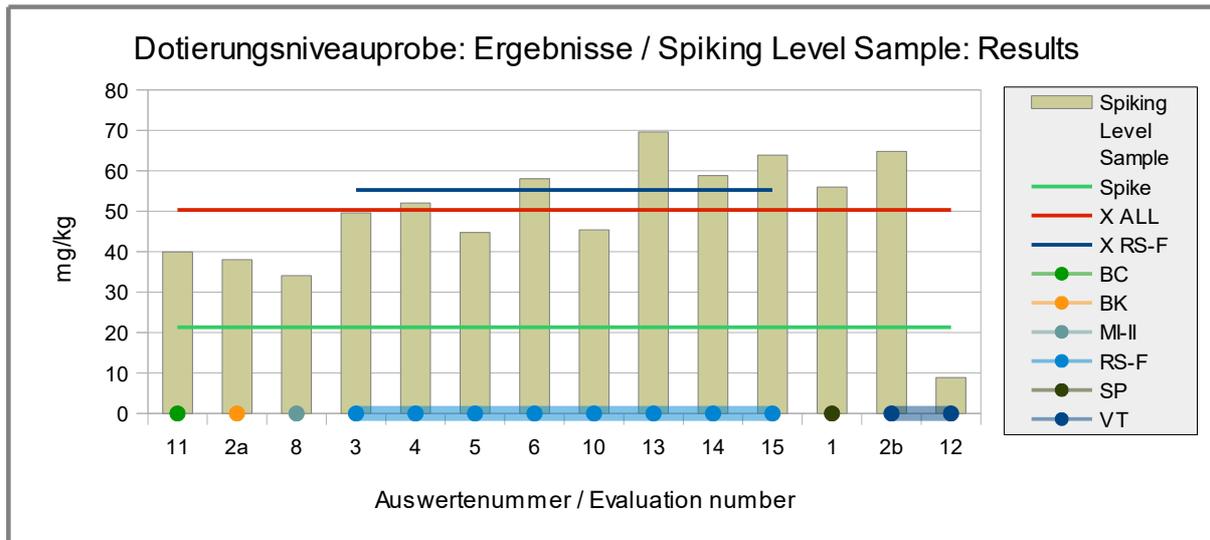


Abb./Fig. 6: ELISA-Ergebnisse Erdnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

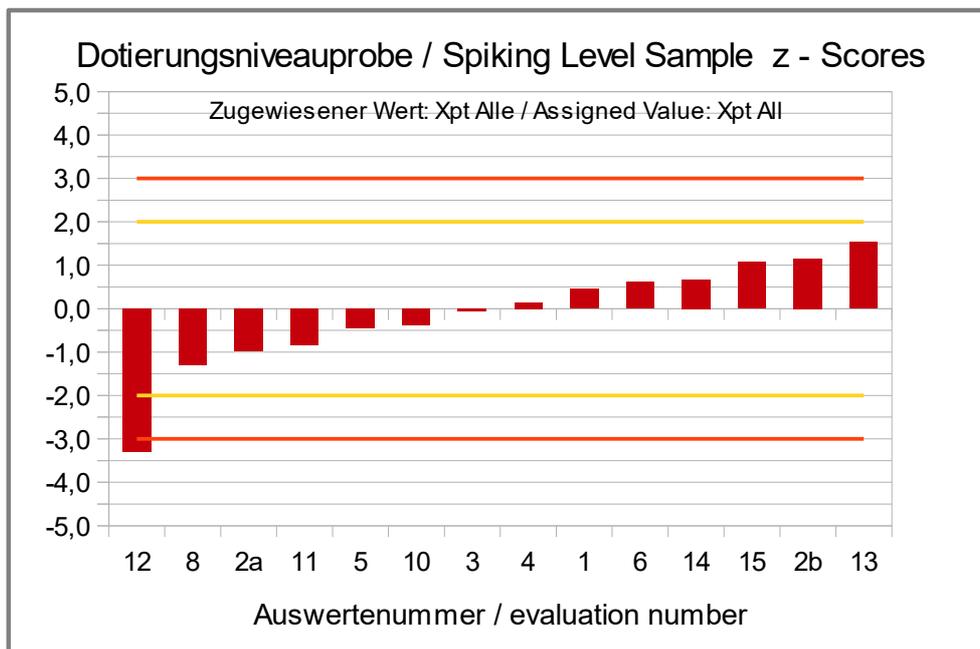


Abb./Fig. 7:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Erdnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

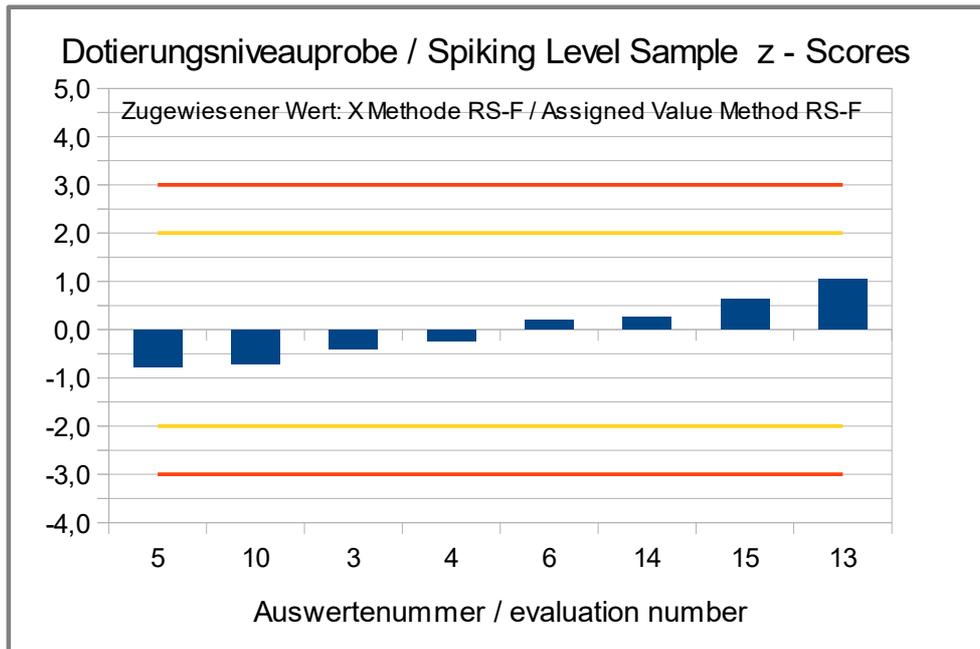


Abb./Fig. 8:

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

Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Erdnuss: Dotierungsniveauprobe und Probe B

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{WFR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{WFR}]		
11	39,9	187	3,5	13,2	43	-2,3	BC	
2a	38,0	178	3,1	10,2	34	-2,7	BK	
8	34,1	160	2,4	13,4	44	-2,2	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
3	49,6	233	5,3	15,6	51	-1,9	RS-F	
4	52,0	244	5,8	21,0	69	-1,2	RS-F	
5	44,7	210	4,4	20,0	66	-1,4	RS-F	
6	58,0	272	6,9	20,0	66	-1,4	RS-F	
10	45,4	213	4,5	14,3	47	-2,1	RS-F	
13	69,6	327	9,1	21,3	70	-1,2	RS-F	
14	58,8	276	7,0	19,2	63	-1,5	RS-F	
15	63,9	300	8,0	17,0	56	-1,8	RS-F	
1	56,0	263	6,5	22,0	72	-1,1	SP	
2b	64,8	304	8,2	15,6	51	-1,9	VT	
12	8,87	42	-2,3	4,39	14	-3,4	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	9
Prozent im AB	0	Prozent im AB	64

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

BC = BioCheck ELISA

BK = BioKits, Neogen

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe lagen alle mittels ELISA erhaltenen Wiederfindungsraten deutlich oberhalb der AOAC-Anforderung von 50-150% (Ausnahme Ergebnis Nr. 12). Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen alle Wiederfindungsraten unter 100%, davon 64% (9) im Akzeptanzbereich.

Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
7	negativ		negativ		1/2 (50%)	SFA	keine Positivprobe identifiziert
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
3	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
8	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	3
Anzahl negativ	4	1
Prozent positiv	0	75
Prozent negativ	100	25
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

Es wurden keine quantitativen Ergebnisse von den Teilnehmern eingereicht.

(Quantitative) Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Es wurden keine quantitativen Ergebnisse von den Teilnehmern eingereicht.

Auswertenummer	Erdnuss	Erdnuss	z-Score X _{pt} _{ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
7	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
3	positiv			div	
8	positiv			div	

Anzahl positiv	4
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Es wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

4.2 Vergleichsuntersuchung Mandel

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Mandel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
3	negativ		positiv	12,8	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
11	negativ	<0,5	positiv	3,30	2/2 (100%)	BC	
4	negativ		positiv	12,0	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	<2,5	positiv	12,1	2/2 (100%)	RS-F	
6	negativ		positiv	12,0	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ	<2,5	positiv	8,16	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<2,5	positiv	9,15	2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ	<2,5	positiv	9,72	2/2 (100%)	RS-F	
1	negativ	0	positiv	5,00	2/2 (100%)	SP	
8	negativ	<0,4	positiv	3,60	2/2 (100%)	SP	
2	negativ	<2,5	positiv	4,40	2/2 (100%)	VT	
9	positiv	0,200	positiv	6,20	1/2 (50%)	VT	Probe A < BG

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	1	12
Anzahl negativ	11	0
Prozent positiv	8	100
Prozent negativ	92	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Für Probe A wurde ein positives Ergebnis unterhalb der Bestimmungsgrenze der Methode VT (Veratox, Neogen) angegeben.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Mandel	z'-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	Info #			
3	12,8	1,8		AQ	Ergebnis umgerechnet °
11	3,30	-1,9		BC	
4	12,0	1,5	0,56	RS-F	
5	12,1	1,5	0,60	RS-F	
6	12,0	1,5	0,56	RS-F	
10	8,16	-0,02	-0,90	RS-F	
13	9,15	0,38	-0,52	RS-F	
15	9,72	0,60	-0,30	RS-F	
1	5,00	-1,3		SP	
8	3,60	-1,8		SP	
2	4,40	-1,5		VT	
9	6,20	-0,79		VT	

zur Information

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

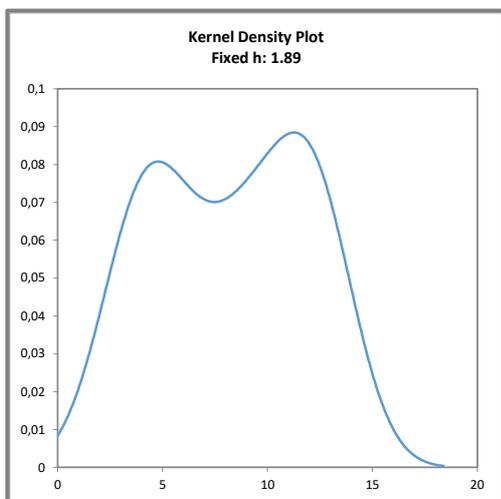


Abb. / Fig. 9:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Verteilung der Ergebnisse mit einem Maximum bei 4,8 mg/kg, das auf jeweils 1-2 Ergebnisse der Methoden BC, SP und VT zurückgeht, und einem Maximum bei 11,5 mg/kg, das auf Ergebnisse der Methoden AQ und RS-F zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mandel**Probe B**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	12	6
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	8,20	10,5
Median	8,66	10,9
Robuster Mittelwert (X_{pt})	8,20	10,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,08	1,96
Zielkenndaten:	Info #	
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	2,52	2,63
Untere Grenze des Zielbereichs	3,15	5,26
Obere Grenze des Zielbereichs	13,2	15,8
Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}	1,6	0,75
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,47	1,00
Ergebnisse im Zielbereich	12	6
Prozent im Zielbereich	100	100

zur Information

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine zweigipflige Verteilung mit möglicherweise methodenabhängigen Unterschieden. Für die Methode RS-F lagen ≥ 5 Einzelergebnisse vor, sodass eine separate Auswertung möglich war. Für die anderen Methoden lagen jeweils nur 1-2 Ergebnisse vor. Aus diesem Grund konnten keine separaten Auswertungen durchgeführt werden. Daher wurde trotz der zweigipfligen Verteilung eine rein informative Auswertung über alle Methoden vorgenommen. Der sich ergebende Zielbereich besitzt keine Gültigkeit für die Einzelmethoden.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} von 2,0 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann unter 2,0. Die Auswertung der Ergebnisse der Methode RS-F zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen bezüglich der Methode RS-F liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 24% bzw. 31% vom Zusatzniveau von Mandel zu Probe B, unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.42 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mandel").

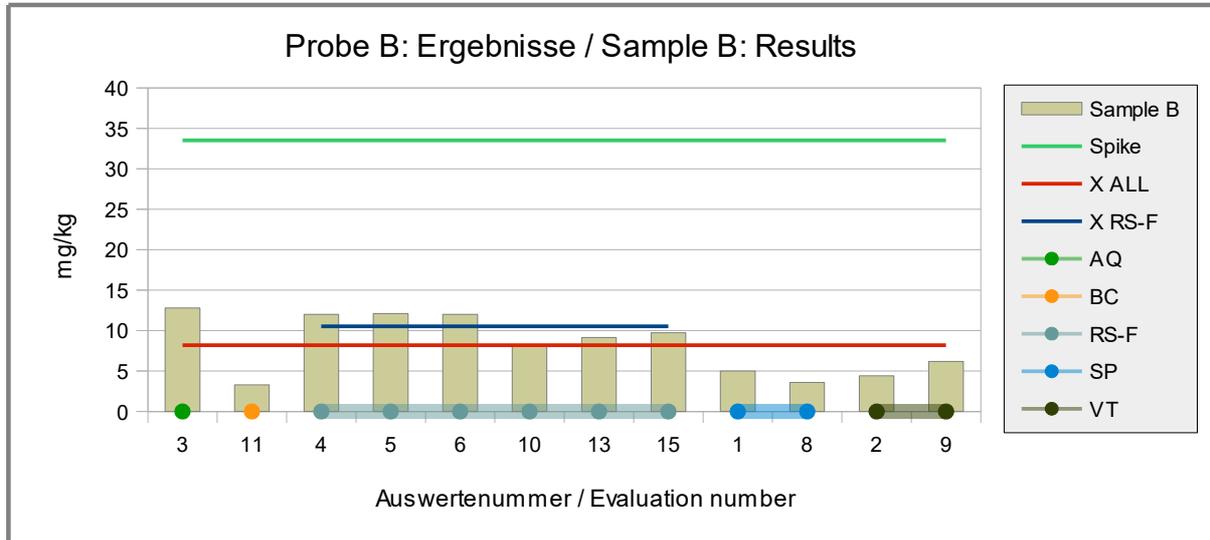


Abb./Fig. 10: ELISA-Ergebnisse Mandel
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

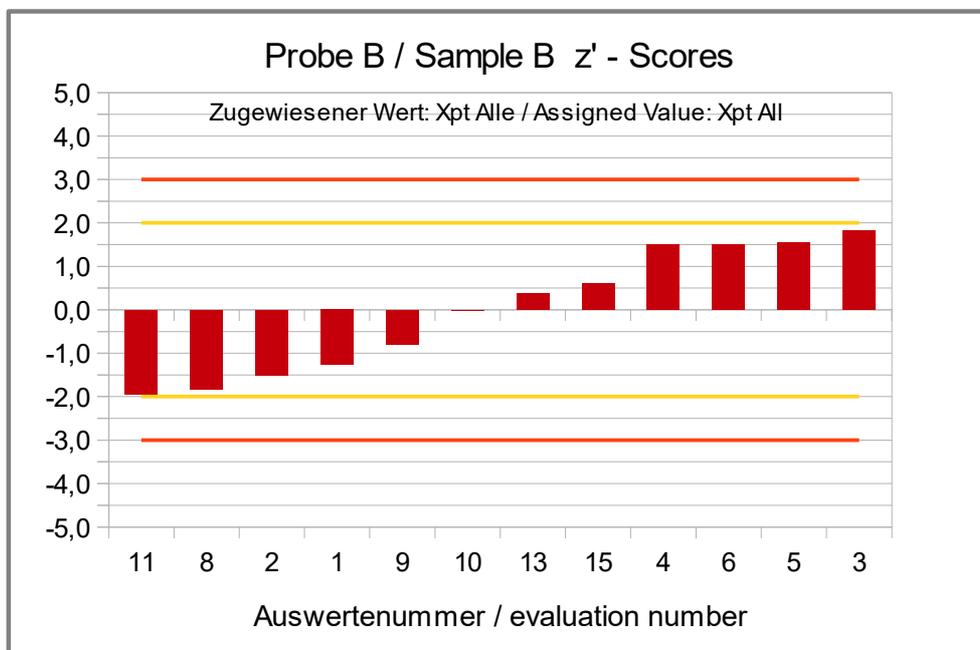


Abb./Fig. 11:
 z'-Scores (ELISA-Ergebnisse als Mandel)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

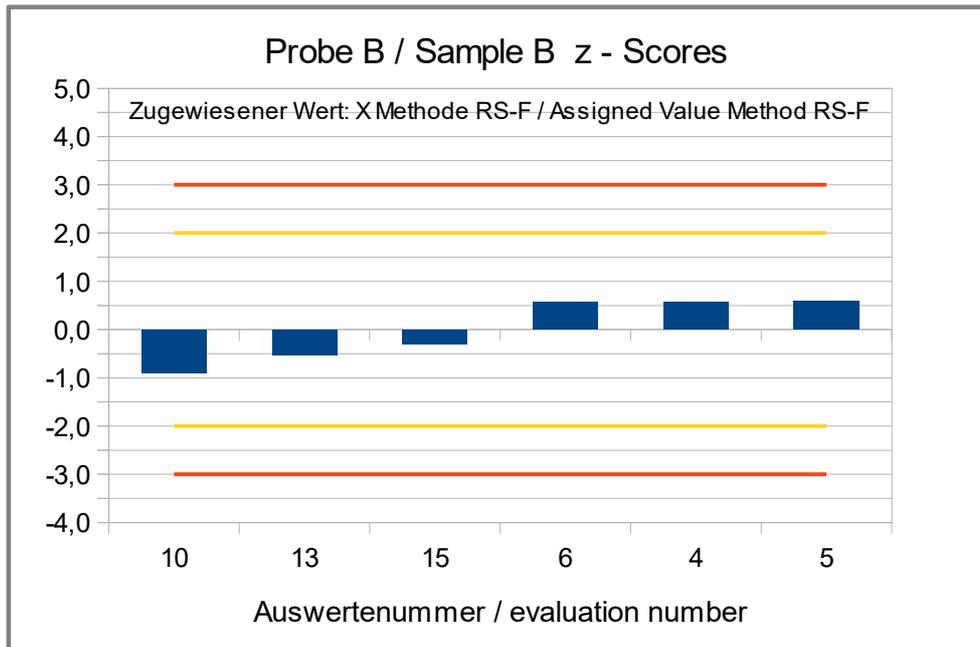


Abb./Fig. 12:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswerte- nummer	Mandel [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
3	57,3	6,5		AQ	Ergebnis umgerechnet °
11	9,30	-2,3		BC	
4	23,0	0,23	0,28	RS-F	
5	20,0	-0,32	-0,27	RS-F	
6	20,0	-0,32	-0,27	RS-F	
10	19,8	-0,36	-0,32	RS-F	
13	20,9	-0,15	-0,11	RS-F	
15	29,5	1,4	1,5	RS-F	
1	25,0	0,60		SP	
8	13,0	-1,6		SP	
2	25,9	0,77		VT	
9	20,2	-0,28		VT	Probe A < BG

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

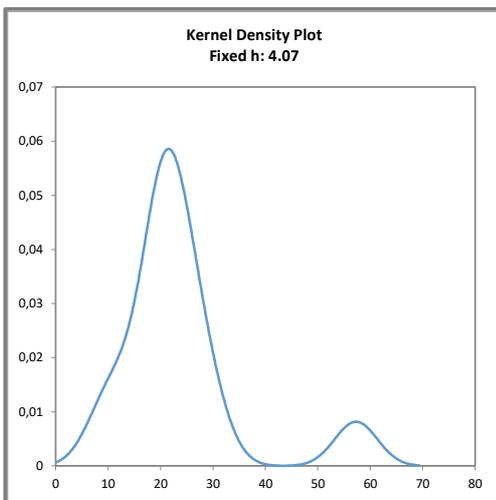


Abb. / Fig. 13:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit einer Schulter bei < 10 mg/kg und einem Nebenpeak bei 57 mg/kg, der auf einen Einzelwert außerhalb des Zielbereiches zurückgeht (Methode AQ).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mandel**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	12	6
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	23,7	22,2
Median	20,6	20,5
Robuster Mittelwert (X_{pt})	21,7	21,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	6,65	2,45
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	5,43	5,37
Untere Grenze des Zielbereichs	10,9	10,7
Obere Grenze des Zielbereichs	32,6	32,2
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	0,46
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,40	1,25
Ergebnisse im Zielbereich	10	6
Prozent im Zielbereich	83	100

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse (ein hoher Einzelwert).

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 108% bzw. 106% vom Zusatzniveau von Mandel zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.42 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mandel").

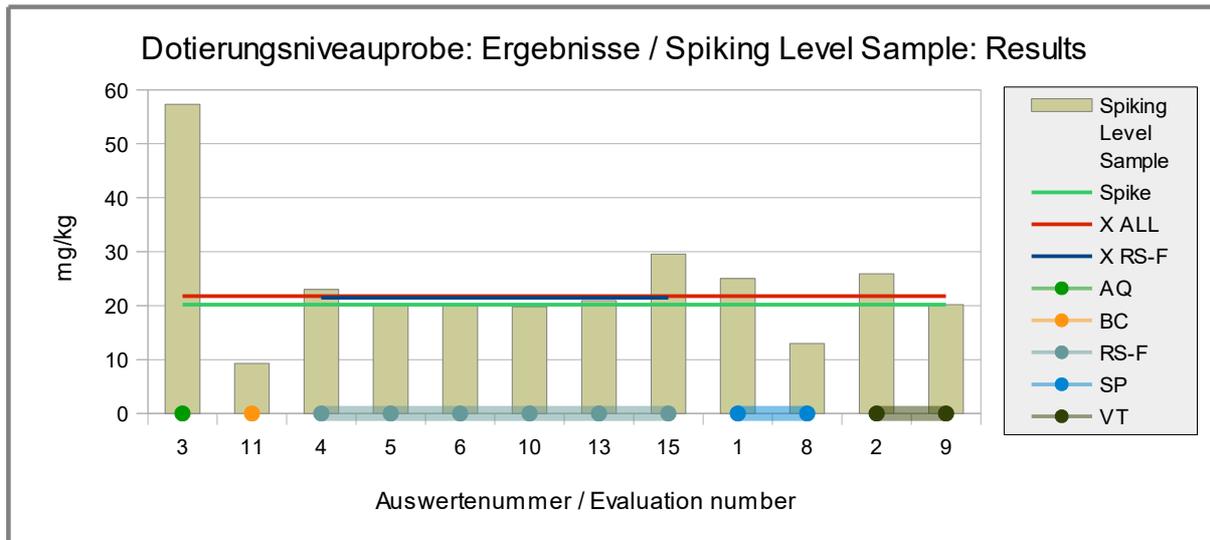


Abb./Fig. 14: ELISA-Ergebnisse Mandel
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

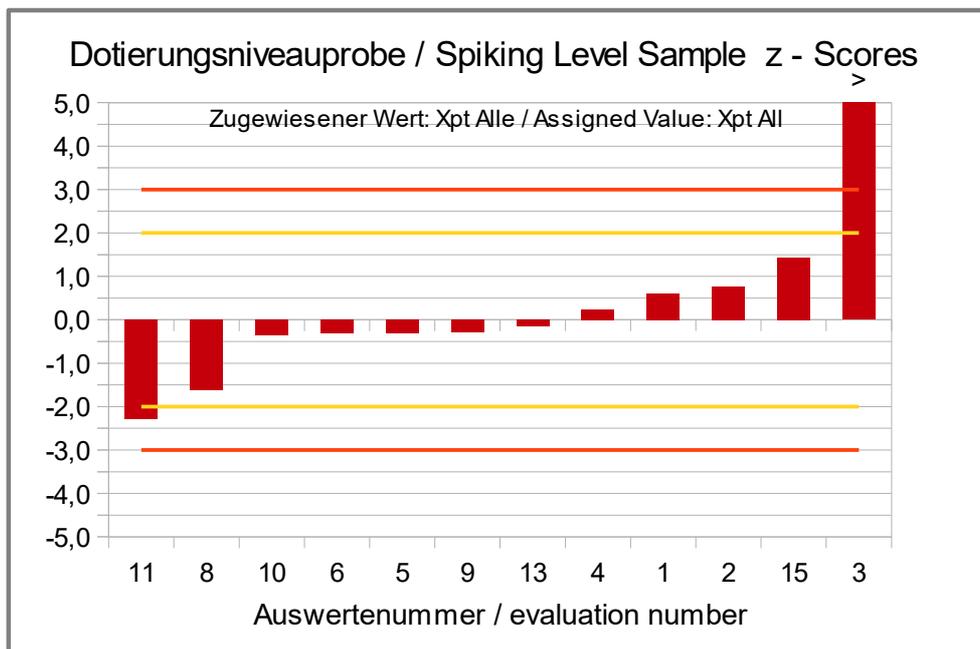


Abb./Fig. 15:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Mandel)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

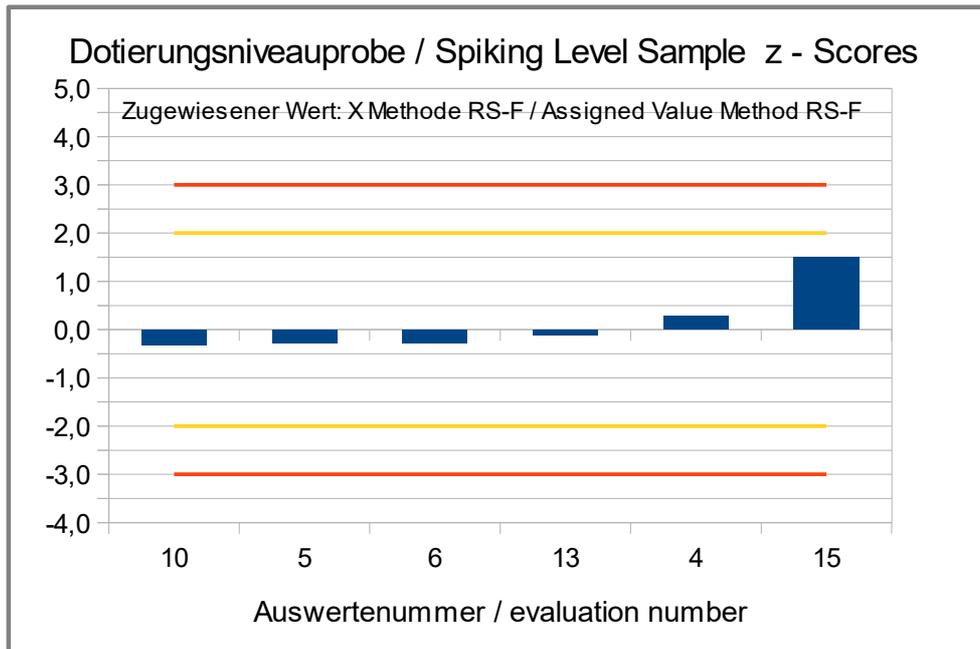


Abb./Fig. 16:

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

Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mandel: Dotierungsniveauprobe und Probe B

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
3	57,3	284	7,3	12,8	38	-2,5	AQ	Ergebnis umgerechnet °
11	9,30	46	-2,2	3,30	10	-3,6	BC	
4	23,0	114	0,55	12,0	36	-2,6	RS-F	
5	20,0	99	-0,04	12,1	36	-2,6	RS-F	
6	20,0	99	-0,04	12,0	36	-2,6	RS-F	
10	19,8	98	-0,08	8,16	24	-3,0	RS-F	
13	20,9	104	0,14	9,15	27	-2,9	RS-F	
15	29,5	146	1,8	9,72	29	-2,8	RS-F	
1	25,0	124	0,95	5,00	15	-3,4	SP	
8	13,0	64	-1,4	3,60	11	-3,6	SP	
2	25,9	128	1,1	4,40	13	-3,5	VT	
9	20,2	100	0,00	6,20	19	-3,3	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	10	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	83	Prozent im AB	0

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

83% (10) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen keine Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich, sondern deutlich darunter.

Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Mandel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
7	negativ		negativ		1/2 (50%)	SFA	keine Positivprobe identifiziert
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
3	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	1
Anzahl negativ	3	2
Prozent positiv	0	33
Prozent negativ	100	67
Konsenswert	negativ	keiner

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Der negative Konsenswert für Probe A steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Für Probe B wurde ein negatives Ergebnis angegeben, sodass kein Konsenswert von ≥75% festgestellt werden konnte.

Qualitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Mandel	Mandel	z-Score X _{pt} ALL	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
7	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
3	positiv			div	

Anzahl positiv	3
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Es wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe B und Dotierungsniveauprobe

Es wurden keine quantitativen Ergebnisse von den Teilnehmern eingebracht.

4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

Z-Scores für die zugewiesenen Werte der Teilnehmer-Ergebnisse (Konsenswerte)

Auswertenummer	ELISA Erdnuss: Xpt (div. Methoden)		ELISA Erdnuss: Xpt (Methode: RS-F)		ELISA Mandel: Xpt (div. Methoden)		ELISA Mandel: Xpt (Methode: RS-F)	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B*	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1	1,3	0,45	-	-	-1,3	0,60	-	-
2 / 2a	-1,5	-0,98	-	-	-1,5	0,77	-	-
2b	-0,24	1,2	-	-	-	-	-	-
3	-0,24	-0,06	-0,64	-0,41	1,8	6,5	-	-
4	1,1	0,14	0,53	-0,23	1,5	0,23	0,56	0,28
5	0,82	-0,45	0,31	-0,76	1,5	-0,32	0,60	-0,27
6	0,82	0,61	0,31	0,20	1,5	-0,32	0,56	-0,27
7	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-0,78	-1,3	-	-	-1,8	-1,6	-	-
9	-	-	-	-	-0,79	-0,28	-	-
10	-0,56	-0,39	-0,92	-0,71	-0,02	-0,36	-0,90	-0,32
11	-0,82	-0,83	-	-	-1,9	-2,3	-	-
12	-2,9	-3,3	-	-	-	-	-	-
13	1,1	1,5	0,58	1,0	0,38	-0,15	-0,52	-0,11
14	0,63	0,68	0,14	0,26	-	-	-	-
15	0,11	1,1	-0,33	0,62	0,60	1,4	-0,30	1,5

Methoden: RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

*z'-Scores

Bewertung des z-Scores / valuation of z-score (DIN ISO 13528:2009-01):

$-2 \leq z\text{-score} \leq 2$ erfolgreich / successful (in green)

$-2 > z\text{-score} > 2$ „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)

$-3 > z\text{-score} > 3$ „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

**Z-Scores für die zugewiesenen Werte des Zusatzniveaus
(Wiederfindungsraten)**

Auswertenummer	ELISA Erdnuss:		ELISA Mandel:	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1	-1,1	6,5	-3,4	0,95
2 / 2a	-2,7	3,1	-3,5	1,1
2b	-1,9	8,2		
3	-1,9	5,3	-2,5	7,3
4	-1,2	5,8	-2,6	0,55
5	-1,4	4,4	-2,6	-0,04
6	-1,4	6,9	-2,6	-0,04
7				
8	-2,2	2,4	-3,6	-1,4
9			-3,3	0,00
10	-2,1	4,5	-3,0	-0,08
11	-2,3	3,5	-3,6	-2,2
12	-3,4	-2,3		
13	-1,2	9,1	-2,9	0,14
14	-1,5	7,0		
15	-1,8	8,0	-2,8	1,8

Bewertung des z-Scores / valuation of z-score (DIN ISO 13528:2009-01):

$-2 \leq z\text{-score} \leq 2$ erfolgreich / successful (in green)

$-2 > z\text{-score} > 2$ „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)

$-3 > z\text{-score} > 3$ „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

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: Erdnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD *	BG/ LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
BC	11	28.09.20	negativ	<1	positiv	13,2	positiv	39,9	1	1	50	Erdnuss, gesamt	BioCheck ELISA Peanut-Check
BK	2a	05.10.20	negativ	<1	positiv	10,2	positiv	38		1		Erdnuss	BioKits Peanut Assay Kit, Neogen
MI-I	8	16.09.20	negativ	<0,2	positiv	3,1	positiv	7,9	0,2	0,2		Erdnussprotein	Peanut ELISA Kit-II, Morinaga
RS-F	3		negativ		positiv	15,6	positiv	49,6	2,5	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	4	23.09.20	negativ		positiv	21	positiv	52	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	5	22.10.20	negativ	< 2,5	positiv	20	positiv	44,7	1,5	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	6	20.10.20	negativ	-	positiv	20	positiv	58	0,3	1		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	10	28.09.20	negativ	<2,5	positiv	14,29	positiv	45,39	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	13	04.11.20	negativ	<2,5	positiv	21,26	positiv	69,58	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	14	16.10.20	negativ		positiv	19,2	positiv	58,8	0,13	2,5	18,5	Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	15	06.11.20	negativ	<1	positiv	17,04	positiv	63,85	1	1	31,4	Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
SP	1	15.09.20	negativ	0	positiv	22	positiv	56	0.1	1		Erdnuss	Eurofins SensiSpec Peanut ELISA Kit
VT	2b	15.10.20	negativ	<2,5	positiv	15,6	positiv	64,8		2,5		Erdnuss	Veratox Peanut, Neogen
VT	12		negativ		positiv	4,39	positiv	8,87		2,5		Erdnuss	Veratox Peanut, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
BC	11		0.5g Probe, 10ml Extraktionspuffer, 15 min bei 60 °C	Ja	
BK	2a		Wie angegeben in Kit-Beilage	Ja	
MI-I	8	erkennt Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	M2120 Peanut Sensitive ELISA Kit II Morinaga
RS-F	3				
RS-F	4		10 min bei 60°C Schüttelwasserbad	Ja	
RS-F	5				
RS-F	6			ja	
RS-F	10		lt. Testkitanweisung	ja	
RS-F	13	Antikörper detektieren spezifisch Erdnussproteine, beinhaltet Ara h 1 und Ara h 2	Extraktion: Mit Allergen-Extraktionspuffer, 10 min., 60 °C	ja	
RS-F	14	Arah1 e Arah2	Ridascreen Extraktionspuffer	ja	
RS-F	15	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
SP	1				
VT	2b		Wie angegeben in Kit-Beilage	ja	
VT	12				

5.1.2 ELISA: Mandel

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD *	BG/ LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
AQ	3		negativ		positiv	2,7	positiv	12,1	0,4	0,4		Mandelprotein	AgraQuant ELISA Almond COKAL0748, RomerLabs
BC	11	28.09.20	negativ	<0.5	positiv	3,3	positiv	9,3	0,5	0,5	50	Mandel, gesamt	BioCheck ELISA Almond-Check
RS-F	4	23.09.20	negativ		positiv	12	positiv	23	0,1	2,5		Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
RS-F	5	22.10.20	negativ	< 2.5	positiv	12,1	positiv	20	1,5	2,5		Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
RS-F	6	20.10.20	negativ	-	positiv	12	positiv	20	0,3	1		Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
RS-F	10	13.10.20	negativ	<2,5	positiv	8,16	positiv	19,78	0,23	2,5		Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
RS-F	13	04.11.20	negativ	<2,5	positiv	9,15	positiv	20,91	0,1	2,5		Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
RS-F	15	06.11.20	negativ	<2.5	positiv	9,72	positiv	29,54	2,5	2,5	26,48	Mandel	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm
SP	1	15.09.20	negativ	0	positiv	5	positiv	25	0.2	0.4		Mandel	Eurofins SensiSpec Almond ELISA Kit
SP	8	18.09.20	negativ	<0,4	positiv	3,6	positiv	13	0,4	0,4		Mandel	Eurofins SensiSpec Almond ELISA Kit
VT	2	15.10.20	negativ	<2,5	positiv	4,4	positiv	25,9		2,5		Mandel	Veratox Almond, Neogen
VT	9		0,2		6,2		20,2					Bitte auswählen!	Auswahl Mandel-Kits:

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	3				
BC	11		0.5g Probe, 10ml Extraktionspuffer, 15 min bei 60°C	ja	
RS-F	4		10 min bei 60°C Schüttelwasserbad	Ja	
RS-F	5				
RS-F	6			ja	
RS-F	10		lt. Testkitanweisung	ja	
RS-F	13	Antikörper detektieren spezifisch Proteine von Mandel	Extraktion: mit Allergen Extraktionspuffer, 10 min., 60 °C	ja	
RS-F	15	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
SP	1				
SP	8	erkennt Mandelproteine	lt. Herstellerangaben	ja	
VT	2		wie in Kit-Beilage angegeben	ja	
VT	9		15 min / 60°C	nein	

5.1.3 PCR: Erdnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD *	BG/ LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg					
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel/ Protein	PCR Test-Kit + Anbieter
SFA	7		negativ		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	15	06.11.20	negativ		positiv		positiv		1			Erdnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
div	3		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden
div	8	17.09.20	negativ		positiv		positiv		5			Erdnuss-DNA	andere: bitte eingeben!

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	7				
SFA	15	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
div	3				
div	8		CTAB / Proteinase K / Rnase A / Promega Maxwell / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	interne Methode

5.1.4 PCR: Mandel

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD *	BG/ LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg					
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	PCR Test-Kit + Anbieter
SFA	7		negativ		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	15	06.11.20	negativ		positiv		positiv		1			Mandel	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
div	3		negativ		negativ		positiv					Mandel-DNA	foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	7				
SFA	15	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	nein	
div	3				

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL05 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	2,96	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	21,2	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	40	16,0
2	5,01	46	18,4
3	5,03	43	17,1
4	5,02	45	17,9
5	5,01	50	20,0
6	4,97	51	20,5
7	5,00	47	18,8
8	5,00	52	20,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	46,8	Partikel
Standardabweichung	4,20	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	2,64	
Wahrscheinlichkeit	92	%
Wiederfindungsrate	88	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	18,7	mg/kg
Standardabweichung	1,68	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,0	%
Horwitz Standardabweichung	10,3	%
HorRat-Wert	0,87	
Wiederfindungsrate	88	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL05 Dotierungsnivauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,55	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	19,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	58	23,2
2	4,98	53	21,3
3	5,00	51	20,4
4	5,00	50	20,0
5	4,97	56	22,5
6	4,98	49	19,7
7	4,98	49	19,7
8	5,04	56	22,2

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	52,7	Partikel
Standardabweichung	3,49	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,62	
Wahrscheinlichkeit	98	%
Wiederfindungsrate	107	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	21,1	mg/kg
Standardabweichung	1,40	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,6	%
Horwitz Standardabweichung	10,1	%
HorRat-Wert	0,65	
Wiederfindungsrate	107	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL05 - 2020
EP-Name	Allergene V: Erdnuss und Mandel in Backware mit „Dotierungsniveauprobe“
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Kakaokekse (Gebacken 150°C) / Zutaten: Weizenmehl, Zucker, Palmöl, Glukosesirup, fettarmes Kakaopulver, Backtriebmittel: Natriumcarbonate, Diphosphate; Salz, Apfelextrakt, Magermilchpulver, Emulgator: Lecithine (Soja); Aromen, Säuerungsmittel: Citronensäure; Stärke (Weizen), Hühnervolleipulver sowie Butter, Eier, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Erdnuss (Erdnussprotein, DNA), Mandel (Mandelprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	spätestens 06. November 2020
Auswertebereich	Der Auswertebereich wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Dr. Matthias Besler-Scharf

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		GROSSBRITANNIEN
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		KANADA
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ
		Deutschland
		FRANKREICH
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ
		UNGARN
		GROSSBRITANNIEN
		KROATIEN

[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 inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 – 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 – 196 (2006)
12. AMC Kernel Density – Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. Codex Alimentarius Commission (2010) – Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
19. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by immunological methods – Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by molecular biological methods – Part 1: General considerations
21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel – Nachweis von Lebensmittelallergenen – Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs – Detection of food allergens – General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a

- collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
 30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
 31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
 32. ASU §64 LFGB L 00.00-169 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Erdnuss in Lebensmitteln mittels real-time PCR (2019) [Foodstuffs, detection and determination of peanut in foods by real-time PCR]
 33. ASU §64 LFGB L 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (Prunus dulcis) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of almond (Prunus dulcis) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 34. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (Bertholletia exceisa) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (Bertholletia exceisa) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 35. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]

DLA ptAL05 (2020) – Allergene V

Alle 15 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Erdnuss und Mandel für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und PCR-Methoden (qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungs-niveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

9 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Frankreich, Großbritannien, Italien, Kroatien, Schweiz, Ungarn) und ein Teilnehmer in Kanada.