



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL10 (2020)

Allergene X:

Gluten

in „glutenfreiem“ Bier

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 ptAL10 (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 (30. Juli 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. Juli 2020</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s)</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	5
2.1.2 Stabilität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Auswertung.....	7
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	7
3.2 Robuste Standardabweichung.....	8
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	8
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	9
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	9
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	9
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	11
3.5 z-Score.....	12
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	12
3.6 z'-Score.....	13
3.7 Quotient S^*/opt	13
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	13
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	14
4. Ergebnisse.....	14
4.1 Vergleichsuntersuchung Gluten.....	16
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	16
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Gluten.....	20
5. Dokumentation.....	21
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	21
5.1.1 ELISA: Gluten.....	21
5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	23
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	24
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	25

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 des Allergens im mg/kg-Bereich zur Verfügung gestellt.

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um handelsübliches "glutenfreies" Bier (Probe A) und um handelsübliches Pilsener Bier (Probe B) (s. Tabelle 1). Die jeweiligen Proben wurden durch Umschwenken auf dem Schüttler homogenisiert.

Die Proben A und B wurden zu Portionen von ca. 50 ml in PE-Flaschen mit Schraubdeckel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B
Bio-Pilsener Bier, glutenfrei Kennzeichnung: 4,7%vol Alkohol, 11,5% Stammwürze Zutaten: Natürliches Mineralwasser, Gerstenmalz, Hopfen Konservierung: Kaliumsorbat*	100 g/100 g	-
Bio-Pilsener Bier Kennzeichnung: 4,7%vol Alkohol, 11,5% Stammwürze Zutaten: Natürliches Mineralwasser, Gerstenmalz, Hopfen Konservierung: Kaliumsorbat*	-	100 g/100 g

* Konservierung der LVU-Proben durch DLA

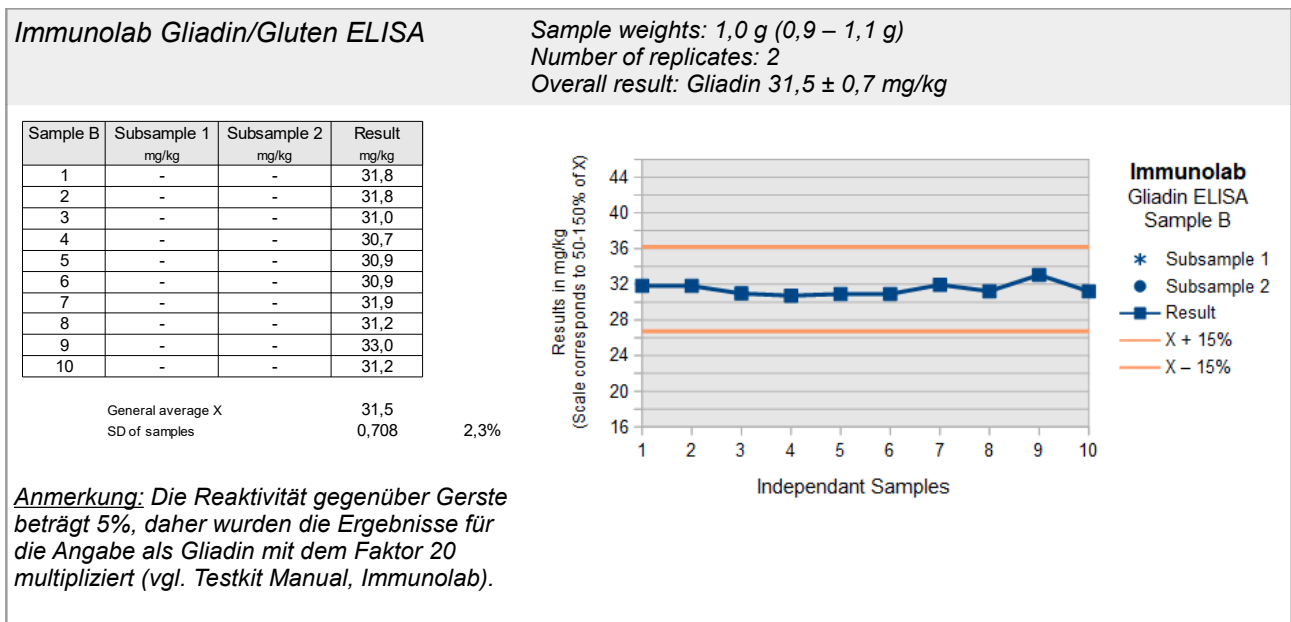
Hinweis: Die metrologische Rückführung von Temperatur, Masse und Volumen bei der Herstellung der LVU-Proben wird mittels DAkkS-kalibrierter Referenzmaterialien gewährleistet.

2.1.1 Homogenität

Die **Homogenität der abgefüllten DLA-Proben** (glutenhaltige Probe B) wurde anhand des Gluten-Gehalts mittels ELISA-Test geprüft und mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von < 15% für das verwendete Verfahren als hinreichend gesichert angesehen [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 Gluten / Homogeneity Gluten



2.1.2 Stabilität

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Bier. In Langzeit-Stabilitätstests über ein Jahr hat sich der Parameter Gluten als stabil erwiesen. 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 14. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 12. Juni 2020 (verlängert).

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 Gluten aus Gerstenmalz (aus Pilsener Bier) im mg/kg Bereich in der Matrix „glutenfreies Bier“.

Hinweis: Bei Ankunft die Proben bitte kühl lagern (2 - 10°C)

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung. (siehe Dokumentation unter Punkt 5.2 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.

Von 17 Teilnehmern haben 16 Teilnehmer ihre Ergebnisse fristgerecht abgegeben. Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [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.

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 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].

Die in Tabelle 2 aufgeführten Präzisionsdaten wurden in Ringversuchen mittels eines kommerziellen ELISAs zur Bestimmung von Gluten in fermentierten getreidehaltigen Produkten erhalten (AOAC-Methode AACCI 38-55.02) [29]. Es wurden "glutenfreies" Bier auf Hirse-Basis sowie mit Hordein-Verdau (Gerste) dotierte Hirsebiere untersucht.

Tabelle 2: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß Auswertungen von Versuchen zur Präzision [29]

Parameter	Matrix	Mittelwerte	RSD_r	RSD_R	Methode / Literatur
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier)	2,36 mg/kg	98,0 %	126,1 %	ELISA [29]
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier), ge-spiked	26,2 mg/kg	30,2 %	36,8 %	ELISA [29]
Gluten	"glutenfreies" Bier (Hirse-Bier), ge-spiked	119,5 mg/kg	31,2 %	31,2 %	ELISA [29]
Gluten	"glutenfreier" Stärkesirup	1,29 mg/kg	157,3 %	236,1 %	ELISA [29]
Gluten	Stärkesirup	10,6 mg/kg	16,3 %	34,4 %	ELISA [29]
Gluten	Sauerteig	48,4 mg/kg	23,1 %	25,9 %	ELISA [29]
Gluten	Sauerteig	145,6 mg/kg	19,5 %	27,5 %	ELISA [29]

Insbesondere kann auch der Glutengehalt in fermentierten Getreideprodukten von verschiedenen ELISA-Methoden unterschiedlich bewertet werden: Eine Vergleichsstudie von 5 Sandwich-ELISAs und 2 kompetitiven ELISA-Methoden zur Bestimmung von Gluten in verschiedenen Stufen der Bierherstellung wurde von Panda et al. (2015) durchgeführt [30].

Von Colgrave et al. (2014) wurde eine LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Gluten in hydrolysierten Form in Bier im Vergleich zu ELISA-Methoden vorgestellt [31].

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

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

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

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

Gesetzliche Regelungen und Höchstwert-Empfehlungen

Die Kennzeichnung von Allergenen ist in der Lebensmittel-Informations-VO (EU 1169/2011) geregelt. Für die Kennzeichnung von Gluten bzw. glutenhaltigen Getreiden gilt gemäß EU-Verordnung 828/2014: Lebensmittel mit einem Glutengehalt <20 mg/kg dürfen als "glutenfrei" und mit Gehalten von maximal 100 mg/kg als mit dem Hinweis "sehr geringer Glutengehalt" bezeichnet werden.

3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

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

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

3.6 z'-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S*/ σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

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

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

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- dann PCR-Methoden zu einem Parameter für die Proben A und B (qualitativ und ggf. quantitativ) angegeben.

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.

In der vorliegenden LVU wurden alle ELISA-Ergebnisse einheitlich als Gluten angegeben, sodass keine Umrechnungen vorgenommen wurden.

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Gluten

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

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		
15	negativ	0	positiv	108	2/2 (100%)	BF	
6	positiv	10	positiv	64,0	1/2 (50%)	IL	
1	negativ	<10	positiv	60,0	2/2 (100%)	RS-C	
2	positiv	10	positiv	77,3	1/2 (50%)	RS-C	Ergebnis Probe A an der BG
3	negativ	< 10	positiv	69,5	2/2 (100%)	RS-C	
4	negativ	<5	positiv	72,1	2/2 (100%)	RS-C	
5	negativ	<10	positiv	51,0	2/2 (100%)	RS-C	
7	negativ		positiv	60,8	2/2 (100%)	RS-C	
8	positiv	19,7	positiv	69,2	1/2 (50%)	RS-C	
10	negativ	< 10	positiv	69,5	2/2 (100%)	RS-C	
11	negativ	<10	positiv	64,7	2/2 (100%)	RS-C	
12	negativ		positiv	44,7	2/2 (100%)	RS-C	Mittelwert von DLA berechnet
13	negativ		positiv	64,6	2/2 (100%)	RS-C	
14	negativ	<10	positiv	123	2/2 (100%)	RS-C	
9	negativ	<5	positiv	21,0	2/2 (100%)	SP	
16	negativ	0,8	positiv	15,9	2/2 (100%)	VT-R5	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	3	16
Anzahl negativ	13	0
Prozent positiv	19	100
Prozent negativ	81	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 IL = Immunolab
 RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT-R5 = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Probe B	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{RS-C}}$	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
15	108	2,8		BF	
6	64,0	0,00		IL	
1	60,0	-0,25	-0,27	RS-C	
2	77,3	0,83	0,80	RS-C	Ergebnis Probe A an der BG
3	69,5	0,35	0,32	RS-C	
4	72,1	0,51	0,48	RS-C	
5	51,0	-0,81	-0,83	RS-C	
7	60,8	-0,20	-0,23	RS-C	
8	69,2	0,33	0,30	RS-C	
10	69,5	0,35	0,32	RS-C	
11	64,7	0,05	0,02	RS-C	
12	44,7	-1,2	-1,2	RS-C	Mittelwert von DLA berechnet
13	64,6	0,04	0,01	RS-C	
14	123	3,7		RS-C	Ausreißer für $X_{pt_{RS-C}}$ ausgeschlossen
9	21,0	-2,7		SP	
16	15,9	-3,0		VT-R5	

Methoden:

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT-R5 = Veratox, Neogen

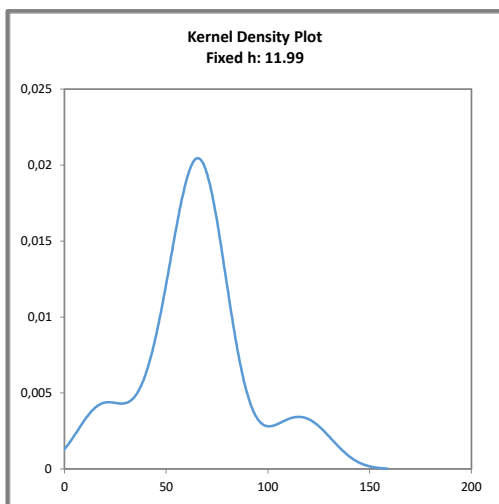


Abb. / Fig. 1:

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 zwei Nebenpeaks bei <30 mg/kg und >100 mg/kg, die auf Einzelwerte verschiedener Methoden zurückgehen.

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-C [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-C}$
Anzahl der Messergebnisse	16	11 ^o
Anzahl der Ausreißer	-	1
Mittelwert	64,7	64,0
Median	64,6	64,7
Robuster Mittelwert (X_{pt})	64,0	64,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	17,6	9,63
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	16,0	16,1
Untere Grenze des Zielbereichs	32,0	32,2
Obere Grenze des Zielbereichs	95,9	96,6
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	0,60
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,49	3,63
Ergebnisse im Zielbereich	12	11
Prozent im Zielbereich	75	100

^oohne Ergebnis Nr. 14 (vorab ausgeschlossen)

Methoden:

RS-C = R-Biopharm, Ridascreen® competitive

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-C zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen deutlich unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im unteren 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.

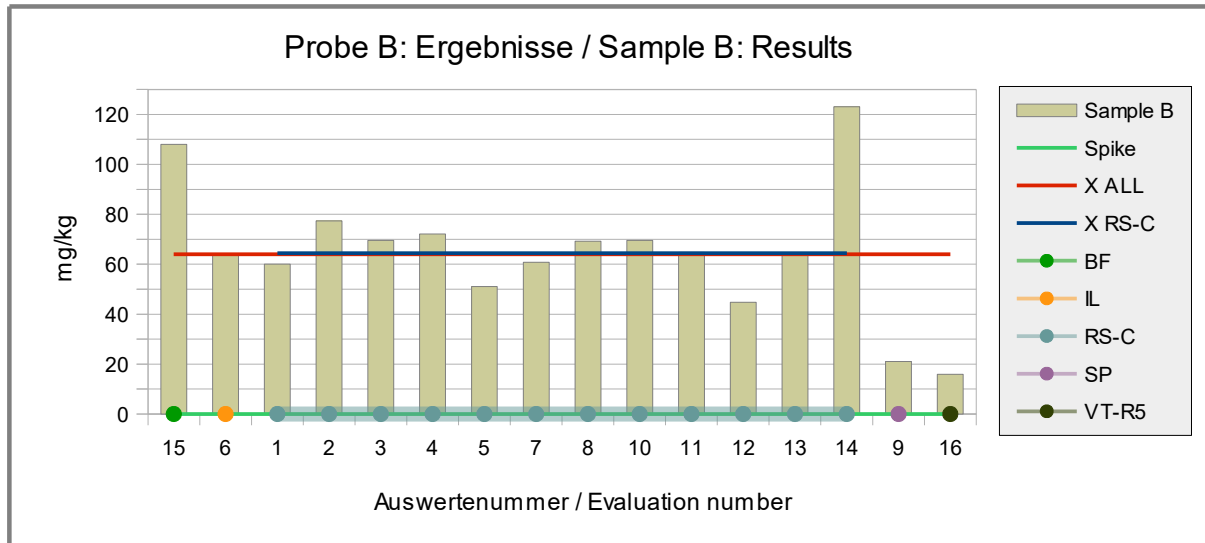


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Gluten
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-C
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

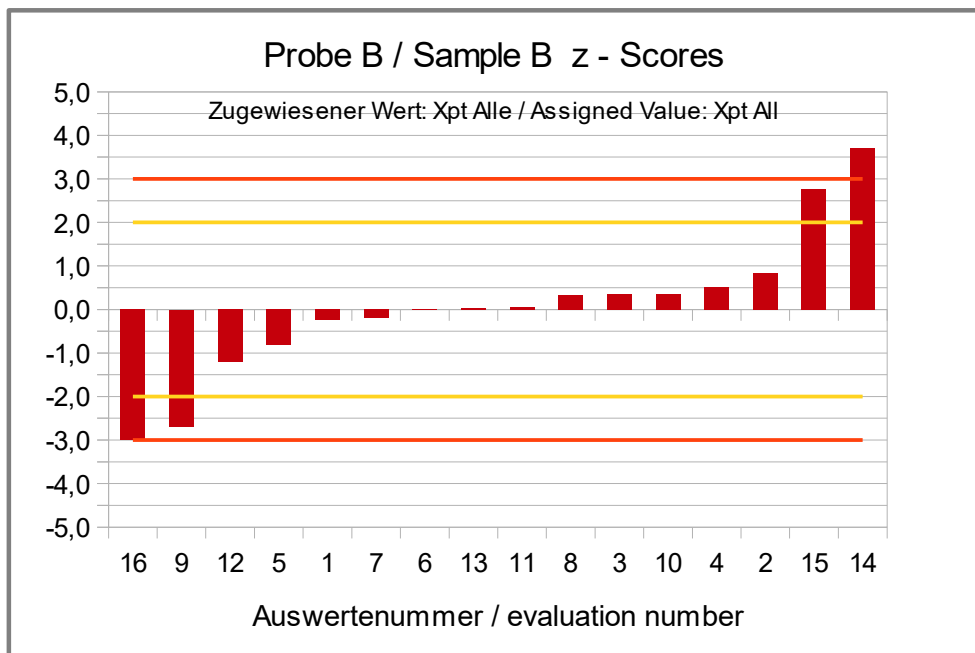


Abb./Fig. 3:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als Gluten
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

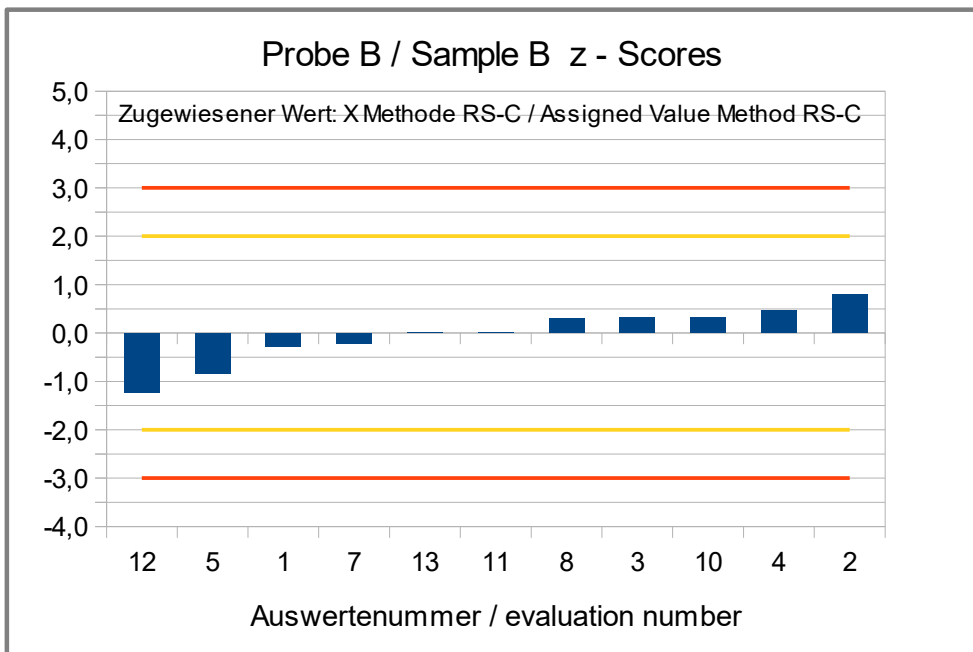


Abb./Fig. 4:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Gluten, Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-C (R-Biopharm, Ridascreen competitive)

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Gluten

Es wurden keine PCR-Ergebnisse von den Teilnehmern eingereicht.

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: Gluten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat								z.B. Lebensmittel/ Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
BF	15	12.06.20	negativ	0	positiv	108	0,36	2		Gluten	MonoTrace Gluten ELISA kit, BioFront Technologies
IL	6	30.04.	positiv	10	positiv	64	0,03*	0,2*		Gluten	Immunolab Gliadin/Gluten ELISA
RS-C	1	15.04.20, 30.04.20	negativ	<10	positiv	60	10	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	2	14.4./15.4.	-	10	-	77,30	4,6	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	3		negativ	< 10	positiv	69,53		10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	4	04.05.20	negativ	<5	positiv	72,1	5	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	5	15.05.20	negativ	<10	positiv	51	10	10	46	Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	7	24.04.20	negativ		positiv	60,8	10	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	8	25.05.20	positiv	19,7	positiv	69,2	8	10	50	Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	10	24.04.20	negativ	< 10	positiv	69,54	4,6	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	11	5. Mai	negativ	<10	positiv	64,7	10	10	38,11	Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	12	24.04.20	negativ		positiv	44,73	10	10	18	Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	13	02.06.20	negativ		positiv	64,56	10	10	59,13	Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-C	14	10.06.20	negativ	<10	positiv	123,1	4,6	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
SP	9	16.04.20	negativ	<5	positiv	21	5	5		Gluten	SENSISPEC Ingezim Test-Combination 30.GLH.K2:2015
VT-R5	16	14.05.20	-	0,8	-	15,9				Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Gluten:

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	
BF	15	Anti-Gliadin Monoklonal	1:40 Extraktionsverhältnis für 1 Stunde bei 60°C	nein	
IL	6	polyklonal	Das ursprüngliche Ergebnis wurde aufgrund der 5% igen Reaktivität von Gerste im Vergleich zu Weizen mit dem Faktor 20 umgerechnet. Gebrauchsanweisung des ELISA.		*nur für Bier, 0.3/2 ppm für andere Proben
RS-C	1		gemäss Protokoll für Bier		
RS-C	2	monoklonaler R5	nach Testanleitung	ja	
RS-C	3			ja	
RS-C	4	monoklonale R5 Antikörper	Extraktion mit 60% Ethanolösung, die 10 % Fischgelatine enthält, nach Testvorschrift	ja	
RS-C	5	Antikörper R5 -Prolamine (QQFPF)	Extraktion: 1 mL in 60% Etanol/10% Fischgelatine. 10 Minuten Agitation-10 Minuten Zentrifugation. Finale Verdünnung 1:500 in Probenpuffer	nein	Ergebnisse angegeben als Gluten (2X Gliadin)
RS-C	7	R5-Antikörper (erfasst Gliadin, Secalin, Hordein)		nein	
RS-C	8	R5	1 ml Probe (doppelt) + 9 ml 60% EtOH mit 10% Fischgelatine. Gut vortexen, 10 min bei RT schütteln. 2500g 10 min zentrifugieren. Der Überstand wird vor dem ELISA 1:50 verdünnt (20 µl + 980 µl Verdünnungspuffer).	ja	Kit LOT verwendet: 12429
RS-C	10	monoklonaler R5	Extraktion und Bestimmung erfolgten nach Herstellerangaben	ja	
RS-C	11	Prolamin	Von nachgewiesenem Gliadin berichtete Glutenäquivalenz	ja	
RS-C	12	monoclonal R5	Ethanol Lösung (60%) enthält 10% flüssige Fischgelatine	ja	
RS-C	13			ja	
RS-C	14	R5	60% Ethanolösung mit 10% Fischgelatine, 10min bei RT über Kopf schütteln	nein	
SP	9	monoklonal, R5	lt. Herstellerangaben	ja	
VT-R5	16		15 min / 60°C		

5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL10 (2020)
EP-Name	Allergene X: Gluten in „glutenfreiem“ Bier (2 Proben)
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Zutaten: Wasser, Gerstenmalz, Hopfen
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 50 ml
Lagerungsinformation	Bei Ankunft die Proben bitte kühl lagern (2 - 10°C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Gluten Proben A + B: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Vor der Analyse empfehlen wir, die Bierproben durch vorsichtiges Umschwenken zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Es wird für jede Probe A und B 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 12. Juni 2020
Auswertebereicht	Der Auswertebereicht 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
		Deutschland
		USA
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		SPANIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEDEN
		GROSSBRITANNIEN
		GROSSBRITANNIEN
		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 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 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. Lacorn & Weiss (2015) Partially Hydrolyzed Gluten in Fermented Cereal-Based Products by R5 Competitive ELISA: Collaborative Study, First Action 2015.05. J AOAC Int 98(5):1346-54.
 30. Panda et al. (2015) Detection and Quantification of Gluten during the Brewing and Fermentation of Beer Using Antibody-Based Technologies. J Food Prot. 78(6):1167-77.
 31. Colgrave et al. (2014) Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA. J Chromatogr A 1370:105-14.

DLA ptAL10 (2020) – Allergene X

Von 17 Teilnehmern haben 16 mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich des Parameters Gluten in 2 unterschiedlichen Bierproben, wovon eine glutenfrei war.

Die Ergebnisse wurden qualitativ und quantitativ ausgewertet. Details inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

8 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Schweden, Schweiz, Spanien) sowie ein Teilnehmer in den USA.