



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAUS3 (2020)

Tierarten-Screening III:

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

***DLA - Proficiency Tests GmbH
Kalte Weide 21
24641 Sievershütten/Germany***

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

*Koordinator der LVU:
Alexandra Scharf MSc.*

1. Korrektur 09.12.2020:

In der Tabelle "DNA-basierte Ergebnisse Schaf" (S. 13) ist ein Übertragungsfehler aufgetreten: Für Teilnehmer 4 und Teilnehmer 6 lagen für die Bewertung der Probe 1 positive Ergebnisse vor, die in der Tabelle fehlen. Die Tabelle wurde entsprechend korrigiert.

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

<i>EP-Anbieter 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 PT-Number</i>	DLA ptAUS3 (2020)
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Alexandra Scharf MSc.
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (9. Dezember 2020) 1. Korrektur / 1st Correction</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 PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i></p> <p>Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i></p> <p>Datum / Date: 9. Dezember 2020</p>
<i>Unteraufträge Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Qualitative Prüfung der EP-Parameter As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Qualitative verification of the PT-parameters</p>
<i>Vertraulichkeit Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Stabilität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Qualitative Auswertung.....	7
3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer.....	7
3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben.....	7
4. Ergebnisse.....	8
4.1 Vergleichsuntersuchung Büffelmilchkäse.....	9
4.1.1 DNA-basierte Ergebnisse: Büffel.....	9
4.1.2 Protein-basierte Ergebnisse: Büffel.....	10
4.2 Vergleichsuntersuchung Kuhmilchkäse.....	11
4.2.1 DNA-basierte Ergebnisse: Kuh.....	11
4.2.2 Protein-basierte Ergebnisse: Kuh.....	12
4.3 Vergleichsuntersuchung Schafmilchkäse.....	13
4.3.1 DNA-basierte Ergebnisse: Schaf.....	13
4.3.2 Protein-basierte Ergebnisse: Schaf.....	14
4.4 Vergleichsuntersuchung Ziegenmilchkäse.....	15
4.4.1 DNA-basierte Ergebnisse: Ziege.....	15
4.4.2 Protein-basierte Ergebnisse: Ziege.....	16
4.5 Vergleichsuntersuchung Rindernachweis.....	17
4.5.1 DNA-basierte Ergebnisse: Rind (Büffel/Kuh).....	17
4.5.2 Protein-basierte Ergebnisse: Rind (Büffel/Kuh).....	17
4.6 Vergleichsuntersuchung Wiederkäuernachweis.....	18
4.6.1 DNA-basierte Ergebnisse: Wiederkäuer.....	18
5. Dokumentation.....	19
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	19
5.1.1 DNA-basierte Methoden: Büffel.....	19
5.1.2 DNA-basierte Methoden: Kuh.....	20
5.1.3 DNA-basierte Methoden: Schaf.....	22
5.1.4 DNA-basierte Methoden: Ziege.....	24
5.1.5 DNA-basierte Methoden: Wiederkäuernachweis.....	26
5.1.6 DNA-basierte Methoden: Rindernachweis (Büffel/Kuh).....	26
5.1.7 Protein-basierte Methoden: Büffel.....	26
5.1.8 Protein-basierte Methoden: Kuh.....	27
5.1.9 Protein-basierte Methoden: Schaf.....	27
5.1.10 Protein-basierte Methoden: Ziege.....	28
5.1.11 Protein-basierte Methoden: Rind (Büffel/Kuh).....	28
5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	29
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	30
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	31

1. Einleitung

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

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

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

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Es wurden 4 unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an Büffelmilch und Kuhmilch in der Matrix Mozzarella, sowie Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch in der Matrix Hirtenkäse zur qualitativen Bestimmung angeboten. Die Parameter waren mit Gehalten von 9 - 13% in der jeweiligen Milchproduktmatrix enthalten.

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

Tabelle 1: Gehalte (in %) der jeweiligen Tierarten in den Hirtenkäse-Proben (1-2) und Mozzarella-Proben (3-4).


Zutaten*	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Kuhmilch-Hirtenkäse	positiv (91%)	positiv (87%)	negativ	negativ
Ziegenmilch-Hirtenkäse	negativ	positiv (13%)	negativ	negativ
Schafmilch-Hirtenkäse	positiv (9%)	negativ	negativ	negativ
Kuhmilch-Mozzarella	negativ	negativ	positiv (89%)	positiv (11%)
Büffelmilch-Mozzarella	negativ	negativ	positiv (11%)	positiv (89%)

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

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

Die Identifizierung der jeweiligen Tierarten in den Proben erfolgte mittels DNA-basiertem LCD-Array Kit MEAT 5.0 (Chipron GmbH) und steht in Übereinstimmung mit den Dotierungen der LVU-Proben 1-4 (s. Tab. 2).

Tabelle 2: Überprüfung der Nachweisbarkeit der enthaltenen Tierarten mittels LCD-Array Kit MEAT 5.0 (Chipron GmbH)

 Chipron	LCD-Array Kit MEAT 5.0*			
	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Rind / Cattle	positiv	positiv	positiv	positiv
Ziege / Goat	negativ	positiv	negativ	negativ
Schaf / Sheep	positiv	negativ	negativ	negativ
Wasserbüffel / Water Buffalo	negativ	negativ	positiv	positiv

*LCD-Array Kit MEAT 5.0 Nachweisgrenze: 0.5% (w/w)

2.1.1 Stabilität

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

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei 0,31 – 0,35 (21–22°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 29. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 4 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 25. September 2020.

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

Es werden 4 unterschiedliche Proben mit möglichen Gehalten an Büffelmilch und Kuhmilch (in der Matrix Mozzarella) sowie Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch (in der Matrix Hirtenkäse) zur qualitativen Bestimmung angeboten. Die Parameter sind mit Gehalten von 5 - 20% in der jeweiligen Milchproduktmatrix enthalten.

*Die Analysemethoden zur Bestimmung sind freigestellt. Ergebnisangabe und Auswertung erfolgen **rein qualitativ (positiv/negativ)**.*

Hinweis: *Bei Ankunft der Proben sollten diese kühl gelagert werden (2-10°C).*

Vor der Analyse soll jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert werden, da sich bei der Herstellung/Verarbeitung der Proben Bestandteile wie beispielsweise Fett absetzen können.

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

Von 18 Teilnehmern haben 17 Teilnehmer fristgerecht Ergebnisse abgegeben. Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse eingereicht.

3. Qualitative Auswertung

Verschiedene Protein-basierende Methoden (z.B. Isoelektrische Fokussierung, ELISA) oder DNA-basierende Methoden zum Nachweis von Tierarten in Lebensmitteln können verschiedene pH-Gradienten, Antikörper- bzw. Ziel-DNA-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung, sowie Lagerung und Reifezeit (bei Käse) die Nachweisbarkeit von Tierarten stark beeinflussen [19].

3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer

Die qualitative Bewertung der DNA bzw. Protein-basierenden Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit dem **Konsenswert der Teilnehmer**. Ein Konsenswert wird festgestellt sofern ≥ 75 % positive oder negative Ergebnisse für einen Parameter vorliegen.

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

3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben

Die qualitative Bewertung der DNA bzw. Protein-basierenden Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit den **Dotierungen der vier LVU-Proben**. Hierzu wird die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl an Proben angegeben. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt angegeben.

4. Ergebnisse

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

Die qualitative Auswertung erfolgt für jeden Parameter getrennt nach Protein- und DNA-basierten Methoden.

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

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Büffelmilchkäse

4.1.1 DNA-basierte Ergebnisse: Büffel

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
1	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
11	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
15	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
4	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-ID	
13	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
17	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
6	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
7	negativ	negativ	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
14			positiv	positiv	2/2 (100%)	2/2 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	11	11
Anzahl negativ	10	10	0	0
Prozent positiv	0	0	100	100
Prozent negativ	100	100	0	0
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	positiv
Dotierung	negativ	negativ	positiv	positiv

Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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

SGS= SGS™ All Species ID MEAT DNA Analyser Kit, ThermoFisher

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 3 (11% Büffelmilch-Mozzarella) und Probe 4 (89% Büffelmilch-Mozzarella).

Alle Teilnehmer haben positive Ergebnisse für die Proben 3 und 4 erhalten.

4.1.2 Protein-basierte Ergebnisse: Büffel**Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
9				positiv	1/1 (100%)	1/1 (100%)	MALDI-TOF-MS	
12	negativ	negativ	negativ	positiv	1/1 (100%)	3/4 (75%)	MALDI-TOF-MS	

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

Methoden:

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

Anmerkung:

Die Ergebnisse beider Teilnehmer stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 4 (89% Büffelmilch-Mozzarella). Teilnehmer 12 hat für die niedriger dotierte Probe 3 (11% Büffelmilch-Mozzarella) ein negatives Ergebnis erhalten, während Teilnehmer 9 kein Ergebnis für Probe 3 ermittelt hat.

Für die Proben 1-3 konnten keine Konsenswerte ermittelt werden, da jeweils nur ein Ergebnis vorlag.

4.2 Vergleichsuntersuchung Kuhmilchkäse

4.2.1 DNA-basierte Ergebnisse: Kuh

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
1	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8b	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
13a	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	EF-ID	
12	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI-2	
8a	positiv	positiv			2/2 (100%)	2/2 (100%)	MS	
11	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
15	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
3	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
4	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
16	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
13b	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
17	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
6	positiv	positiv	positiv	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	div	
7	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
14	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	Ergebnis Probe 4 nicht gesichert

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	17	17	16	15
Anzahl negativ	0	0	0	1
Prozent positiv	100	100	100	94
Prozent negativ	0	0	0	6
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	positiv
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv

Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

EF-ID= DNAAnimal Ident IPC, Eurofins

GI-2= GEN-IAL® First-duplex PCR kit

MS= Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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

SGS= SGS™ All Species ID MEAT DNA Analyser Kit, ThermoFisher

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung der Proben 1-2 (Kuhmilch-Hirtenkäse) bzw. 3-4 (Kuhmilch-Mozzarella).

Ein Teilnehmer hat mit einer nicht näher beschriebenen Methode (div) für die niedriger dotierte Probe 4 (11% Kuhmilch-Mozzarella) ein negatives Ergebnis erhalten.

4.2.2 Protein-basierte Ergebnisse: Kuh**Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
14	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	EP	
5	positiv	positiv	positiv		3/3 (100%)	3/3 (100%)	IEF	Keine Unterscheidung von Büffel/Kuh
9	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MALDI-TOF-MS	
12	positiv	positiv	positiv	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	MALDI-TOF-MS	

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

Methoden:

EP = EuroProxima ELISA Bovine Milk

IEF = Isoelektrische Fokussierung

MALDI-TOF-MS= Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –
Time of Flight Mass SpectrometryAnmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung der Proben 1-2 (Kuhmilch-Hirtenkäse) bzw. 3-4 (Kuhmilch-Mozzarella).

Teilnehmer 5 weist darauf hin, dass eine Unterscheidung von Büffel- und Kuhmilch mit der eingesetzten Methode IEF bisher nicht möglich ist.

4.3 Vergleichsuntersuchung Schafmilchkäse

4.3.1 DNA-basierte Ergebnisse: Schaf

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
1	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8b	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
12	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	
8a	positiv				1/1 (100%)	1/1 (100%)	MS	
11	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
15	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
3	negativ	negativ	negativ	negativ	3/4 (75%)	3/4 (75%)	SFA-4P	
4	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	QE zu Springbock (<i>Antidorcas marsupialis</i>) 100 %
16	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
13	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
17	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
6	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
7	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	positiv		negativ	negativ	3/3 (100%)	3/3 (100%)	div	
14	fraglich						div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	14	0	0	0
Anzahl negativ	1	13	14	14
Prozent positiv	93	0	0	0
Prozent negativ	7	100	100	100
Konsenswert	positiv	negativ	negativ	negativ
Dotierung	positiv	negativ	negativ	negativ

Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

GI= GEN-IAL® First-Meat PCR kit

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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

SGS= SGS™ All Species ID MEAT DNA Analyser Kit, ThermoFisher

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 1 (9% Schafmilch-Hirtenkäse).

Ein Teilnehmer hat mit der verwendeten Methode SFA-4P für Probe 1 ein negatives Ergebnis erhalten. Teilnehmer 14 konnte kein eindeutiges Ergebnis für den Parameter Schaf in Probe 1 erhalten.

4.3.2 Protein-basierte Ergebnisse: Schaf**Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
5	positiv	negativ	negativ	negativ	3/3 (100%)	4/4 (100%)	IEF	
9	positiv	negativ	positiv	negativ	3/3 (100%)	3/4 (75%)	MALDI-TOF-MS	Spuren von Schafkäse

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	2	0	1	0
Anzahl negativ	0	2	1	2
Prozent positiv	100	0	50	0
Prozent negativ	0	100	50	100
Konsenswert	positiv	negativ	keiner	negativ
Dotierung	positiv	negativ	negativ	negativ

Methoden:

IEF = Isoelektrische Fokussierung

MALDI-TOF-MS= Matrix Assisted Laser Desorption Ionization –
Time of Flight Mass SpectrometryAnmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse für die Proben 1, 2 und 4 stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 1 (9% Schafmilch-Hirtenkäse).

Für die undotierte Probe 3 lagen ein positives und ein negatives Ergebnis vor.

4.4 Vergleichsuntersuchung Ziegenmilchkäse

4.4.1 DNA-basierte Ergebnisse: Ziege

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
1	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
2	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
8b	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	CP	
12	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	GI	
8a		positiv			1/1 (100%)	1/1 (100%)	MS	
11	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
15	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	RF	
3	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
4	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
16	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SFA-4P	
13	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
17	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	SGS	
6a	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
6b	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
7	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
9	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
14		positiv			1/1 (100%)	1/1 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	17	0	0
Anzahl negativ	15	0	15	15
Prozent positiv	0	100	0	0
Prozent negativ	100	0	100	100
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	negativ
Dotierung	negativ	positiv	negativ	negativ

Methoden:

CP = Chipron LCD Array Kit MEAT 5.0

GI= GEN-IAL® First-Meat PCR kit

MS = Microsynth

RF= RapidFinder™ ID Kit, ThermoFisher

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

SGS= SGS™ All Species ID MEAT DNA Analyser Kit, ThermoFisher

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 2 (13% Ziegenmilch-Hirtenkäse).

4.4.2 Protein-basierte Ergebnisse: Ziege**Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

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

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

Methoden:

IEF = Isoelektrische Fokussierung

Anmerkung:

Die Ergebnisse von Teilnehmer 5 stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe 2, sowie mit den Ergebnissen der DNA-basierten Methoden.

4.5 Vergleichsuntersuchung Rindernachweis

4.5.1 DNA-basierte Ergebnisse: Rind (Büffel/Kuh)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
10	positiv	positiv	positiv	positiv		4/4 (100%)	div	

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

Methoden:

div = keine genaue Angabe / andere Methode

4.5.2 Protein-basierte Ergebnisse: Rind (Büffel/Kuh)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
16	positiv	positiv	positiv	positiv		4/4 (100%)	EP	Test kann nicht zwischen Milch vom Rind und Milch vom Büffel differenzieren

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

Methoden:

EP = EuroProxima ELISA Bovine Cheese

4.6 Vergleichsuntersuchung Wiederkäuernachweis*4.6.1 DNA-basierte Ergebnisse: Wiederkäuer***Qualitative Auswertung der Ergebnisse**

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
10	positiv	positiv	positiv	positiv		4/4 (100%)	div	

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

Methoden:

div = keine genaue Angabe / andere Methode

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

Hinweis: Angaben in englischer Sprache wurden von DLA nach bestem Wissen ins Deutsche übersetzt (ohne Gewähr der Richtigkeit).

5.1.1 DNA-basierte Methoden: Büffel

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	1	28./29.07.	negativ	negativ	positiv	positiv	1%	DNA	Chipron
CP	2		negativ	negativ	positiv	positiv			DNA Chip (Chipron)
CP	8		negativ	negativ	positiv	positiv	100-250 fg	DNA	Chipron MEAT 5.0 LCD-Array Kit
RF	11	4.9.20	negativ	negativ	positiv	positiv	0,1	DNA	RapidFinder Water Buffalo ID Kit, Thermofisher
RF	15		negativ	negativ	positiv	positiv	2	DNA	Imegen Rapid Finder
SFA-ID	4	30.7.20	negativ	negativ	positiv	positiv	0,1	Lebensmittel/Fleisch	SureFood® Animal ID Water Buffalo IAAC
SGS	13		negativ	negativ	positiv	positiv	0,05	Anzahl der reads	All Species ID Meat DNA Analyser Kit; SGS Molecular
SGS	17		negativ	negativ	positiv	positiv	0,3	DNA	All Species ID, SGS MOLECULAR
div	6	13.8.20	negativ	negativ	positiv	positiv			Hausmethode (konv. PCR-RFLP mittels Consensusprimer-Primer nach Meyer et al., 1995)
div	7	30.7.20	negativ	negativ	positiv	positiv	1	DNA	
div	14	18.9.20	-	-	positiv	positiv	0,05	ng DNA/ PCR	Jürg Rentsch et al.; Eur Food Res Technol (2013) 236:217–227

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
CP	1	A-300-12	mitochondrial 16S rRNA	Durchführung nach Kitanleitung, jedoch mit nur 30 PCR-Zyklen	
CP	2				
CP	8	A-500-04/-12		CTAB-Extraktion	
RF	11	N/A	N/A	GMO Extraktions-Kit, Real-time PCR	
RF	15		DNA	gemäß Testkit-Anleitung	
SFA-ID	4	S6117	Bubalus arnee	SureFood® Prep Basic	K01
SGS	13			Extraktion mit Macherey Nagel NucleoSpin Food Kit, Quantifizierung mit Qubit Assay, PCR mit All Species ID Kit, Gelelektrophorese), Aufreinigung mit AMPure xp magnetic beads, Next Generation Sequencing auf Ion Torrent Plattform (Ion Chef + Ion S5)	
SGS	17			Marchery-Nagel NucleoMag	LOD 130 in 43320 pg
div	6		cytb (359 bp)	Extraktionen nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 1. SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit ProtK, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega; 2. CTAB basiert mit ProtK und Glycogen; Konvent. PCR mit 35 Zyklen und anschließender Restriktionsanalyse	NG für Matrices Milchprodukte/Käsen nicht abschließend validiert (fehlende Kontroll-/Referenzmaterialien)
div	7				
div	14			Wizard; real-time PCR	nicht untersucht

5.1.2 DNA-basierte Methoden: Kuh

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	1	28./29.07.	positiv	positiv	positiv	positiv	1%	DNA	Chipron
CP	2		positiv	positiv	positiv	positiv			DNA Chip (Chipron)
CP	8b		positiv	positiv	positiv	positiv	100-250 fg	DNA	Chipron MEAT 5.0 LCD-Array Kit
EF-ID	13a		positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	DNA	DNAAnimal Ident Beef IPC; Eurofins
GI-2	12	14.8.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,01	DNA	GEN-IAL® First-Cattle PCR Kit
MS	8a		positiv	positiv					AlIMilch, Microsynth
RF	11	4.9.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	DNA	RapidFinder Beef ID Kit, Thermofisher
RF	15		positiv	positiv	positiv	positiv	2	DNA	Imegen Rapid Finder
SFA-4P	3	22.7.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,05	Lebensmittel	Surefood ANIMAL ID Beef/Sheep/Goat (r-biopharm)
SFA-4P	4	30.7.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	Lebensmittel/Fleisch	SureFood® Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat+IAAC
SFA-4P	16	23.9.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	DNA	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat
SGS	13b		positiv	positiv	positiv	positiv	0,05	Anzahl der reads	All Species ID Meat DNA Analyser Kit; SGS Molecular
SGS	17		positiv	positiv	positiv	positiv	0,3	DNA	All Species ID, SGS MOLECULAR
div	6	18.8.20	positiv	positiv	positiv	negativ			Hausmethode (konv. PCR-RFLP mittels Consensusprimer- Primer nach Wolf et al., 1999)
div	7	30.7.20	positiv	positiv	positiv	positiv	1	DNA	
div	9		positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	DNA	Rentsch et al; European Food Research and Technology 2013
div	14	18.9.20	positiv	positiv	positiv	positiv	0,05	ng DNA/ PCR	Jürg Rentsch et al.; Eur Food Res Technol (2013) 236:217–228

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
CP	1	A-300-13	mitochondriale 16S rRNA	Durchführung nach Kitanleitung, jedoch mit nur 30 PCR-Zyklen	
CP	2				
CP	8b	A-500-04/-12		CTAB-Extraktion	
EF-ID	13a	5422220610			
GI-2	12	Art. No.: PHC	die für Rinder (bos taurus) spezifische Region des zyklischen GMP Phospho-diesterase-Gens (102bp)	Real time PCR,	
MS	8a	1217		CTAB	
RF	11	N/A	N/A	GMO Extraktions-Kit, Real-time PCR	
RF	15		DNA	gemäß Testkit-Anleitung	
SFA-4P	3	S6121	DNA	Extraktion, Aufreinigung, Enzyme, Real time PCR	
SFA-4P	4	S6121	Bos taurus	SureFood® Prep Basic	K01
SFA-4P	16	S6121, gemäß Anleitung		Dneay s Mericon Food, 35 Zyklen	
SGS	13b			Extraktion mit Macherey Nagel NucleoSpin Food Kit, Quantifizierung mit Qubit Assay, PCR mit All Species ID Kit, Gelelektrophorese), Aufreinigung mit AMPure xp magnetic beads, Next Generation Sequencing auf Ion Torrent Plattform (Ion Chef + Ion S5)	
SGS	17			Marchery-Nagel NucleoMag	Ergebnis Probe 4 nicht gesichert
div	6		cytb (464 bp)	Extraktionen nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 1. SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit ProtK, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega; 2. CTAB basiert mit ProtK und Glycogen; Konvent. PCR mit 40 Zyklen und anschließender Restriktionsanalyse	NG für Matrices Milchprodukte/Käsen nicht abschließend validiert (fehlende Kontroll-/Referenzmaterialien)
div	7				
div	9			M&N Food Kit. Quantinova Mastermix	
div	14			Wizard; Real-time PCR	

5.1.3 DNA-basierte Methoden: Schaf

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	1	28./29.07.	positiv	negativ	negativ	negativ	1%	DNA	Chipron
CP	2		positiv	negativ	negativ	negativ			DNA Chip (Chipron)
CP	8b		positiv	negativ	negativ	negativ	100-250 fg	DNA	Chipron MEAT 5.0 LCD-Array Kit
GI	12	14.8.20	positiv	negativ	negativ	negativ	0,01	DNA	GEN-IAL® First-Sheep PCR Kit
MS	8a		positiv						AIMilch, Microsynth
RF	11	4.9.20	positiv	negativ	negativ	negativ	0,1	DNA	RapidFinder Sheep ID Kit, Thermofisher
RF	15		positiv	negativ	negativ	negativ	2	DNA	Imegen Rapid Finder
SFA-4P	3	22.7.20	negativ	negativ	negativ	negativ	0,05	Lebensmittel	Surefood ANIMAL ID Beef/Sheep/Goat (r-biopharm)
SFA-4P	4	11.8.20	positiv	negativ	negativ	negativ	0,1	Lebensmittel/Fleisch	SureFood® Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat+IAAC
SFA-4P	16	23.9.20	positiv	negativ	negativ	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat
SGS	13		positiv	negativ	negativ	negativ	0,05	Anzahl der reads	All Species ID Meat DNA Analyser Kit; SGS Molecular
SGS	17		positiv	negativ	negativ	negativ	0,3	DNA	All Species ID, SGS MOLECULAR
div	6	18.8.20	positiv	negativ	negativ	negativ			Hausmethode (konv. PCR-RFLP mittels Consensusprimer-Primer nach Wolf et al., 1999)
div	7	30.7.20	positiv	negativ	negativ	negativ	1	DNA	
div	9		positiv	-	negativ	negativ	0,000002	DNA	Rentsch et al; European Food Research and Technology 2013
div	14	18.9.20	fraglich	-	-	-	0,05	ng DNA/ PCR	Jürg Rentsch et al.; Eur Food Res Technol (2013) 236:217–229

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
CP	1	A-300-14	mitochondriale 16S rRNA	Durchführung nach Kitanleitung, jedoch mit nur 30 PCR-Zyklen	
CP	2				
CP	8b	A-500-04/-12		CTAB-Extraktion	
GI	12	Art. No.: PHSP	für Schaf (<i>ovis aries</i>) spezifisches zyklisches GMP-Phosphodiesterase-Gen (97bp)	Real time PCR,	
MS	8a	1217		CTAB	
RF	11	N/A	N/A	GMO Extraktions- Kit, Real-time PCR	
RF	15		DNA	gemäß Testkit-Anleitung	
SFA-4P	3	S6121	DNA	Extraktion, Aufreinigung, Enzyme, Real time PCR	
SFA-4P	4	S6121	<i>Ovis aries</i>	SureFood® Prep Basic	QE zu Springbock (<i>Antidorcas marsupialis</i>) 100 %, K01
SFA-4P	16	S6121, gemäß Anleitung		Dneay s Mericon Food, 35 Zyklen	
SGS	13			Extraktion mit Macherey Nagel NucleoSpin Food Kit, Quantifizierung mit Qubit Assay, PCR mit All Species ID Kit, Gelelektrophorese), Aufreinigung mit AMPure xp magnetic beads, Next Generation Sequencing auf Ion Torrent Plattform (Ion Chef + Ion S5)	
SGS	17			Marchery-Nagel NucleoMag	
div	6		cytb (464 bp)	Extraktionen nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 1. SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit ProtK, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega; 2. CTAB basiert mit ProtK und Glycogen; Konvent. PCR mit 40 Zyklen und anschließender Restriktionsanalyse	NG für Matrices Milchprodukte/Käsen nicht abschließend validiert (fehlende Kontroll-/Referenzmaterialien)
div	7				
div	9			M&N Food Kit. Quantinova Mastermix	
div	14			Wizard; Real-time PCR	

5.1.4 DNA-basierte Methoden: Ziege

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
CP	1	28./29.07.	negativ	positiv	negativ	negativ	1%	DNA	Chipron
CP	2		negativ	positiv	negativ	negativ			DNA Chip (Chipron)
CP	8b		negativ	positiv	negativ	negativ	100-250 fg	DNA	Chipron MEAT 5.0 LCD-Array Kit
GI	12	14.8.20	negativ	positiv	negativ	negativ	0,01	DNA	GEN-IAL® First-Goat PCR Kit
MS	8a			positiv					AllMilch, Microsynth
RF	11	4.9.20	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	DNA	RapidFinder Goat ID Kit, Thermofisher
RF	15		negativ	positiv	negativ	negativ	2	DNA	Imegen Rapid Finder
SFA-4P	3	22.7.20	negativ	positiv	negativ	negativ	0,05	Lebensmittel	Surefood ANIMAL ID Beef/Sheep/Goat (r-biopharm)
SFA-4P	4	30.7.20	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	Lebensmittel/Fleisch	SureFood® Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat+IAAC
SFA-4P	16	23.9.20	negativ	positiv	negativ	negativ	0,1	DNA	SureFood Animal ID 4plex Beef/Sheep/Goat
SGS	13		negativ	positiv	negativ	negativ	0,05	Anzahl der reads	All Species ID Meat DNA Analyser Kit; SGS Molecular
SGS	17		negativ	positiv	negativ	negativ	0,3	DNA	All Species ID, SGS MOLECULAR
div	6a	18.8.20	negativ	positiv	negativ	negativ			Hausmethode (konv. PCR-RFLP mittels Consensusprimer-Primer nach Wolf et al.,1999)
div	6b	11.8.20	negativ	positiv	negativ	negativ			Hausmethode (konv. PCR mittels tierartspezifischer Primer nach Altmann et al.,2003)
div	7	30.7.20	negativ	positiv	negativ	negativ	1	DNA	
div	9		negativ	positiv	negativ	negativ	0,000005	DNA	Rentsch et al; European Food Research and Technology 2013
div	14	18.9.20	-	positiv	-	-	0,05	ng DNA/ PCR	Jürg Rentsch et al.; Eur Food Res Technol (2013) 236:217–230

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
CP	1	A-300-15	mitochondriale 16S rRNA	Durchführung nach Kitanleitung, jedoch mit nur 30 PCR-Zyklen	
CP	2				
CP	8b	A-500-04/-12		CTAB-Extraktion	
GI	12	Art. No.: PHG	für Ziege (capra) spezifisches zyklisches GMP-Phosphodiesterase-Gen (96bp)	Real time PCR,	
MS	8a	1217		CTAB	
RF	11	N/A	N/A	GMO Extraktions-Kit, Real-time PCR	
RF	15		DNA	gemäß Testkit-Anleitung	
SFA-4P	3	S6121	DNA	Extraktion, Aufreinigung, Enzyme, Real time PCR	
SFA-4P	4	S6121	Capra hircus	SureFood® Prep Basic	K01
SFA-4P	16	S6121, gemäß Anleitung		Dneays Mericon Food, 35 Zyklen	
SGS	13			Extraktion mit Macherey Nagel NucleoSpin Food Kit, Quantifizierung mit Qubit Assay, PCR mit All Species ID Kit, Gelelektrophorese), Aufreinigung mit AMPure xp magnetic beads, Next Generation Sequencing auf Ion Torrent Plattform (Ion Chef + Ion S5)	
SGS	17			Marchery-Nagel NucleoMag	
div	6a		cytb (464 bp)	Extraktionen nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 1. SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit ProtK, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega; 2. CTAB basiert mit ProtK und Glycogen; Konvent. PCR mit 40 Zyklen und anschließender Restriktionsanalyse	NG für Matrices Milchprodukte/Käsen nicht abschließend validiert (fehlende Kontroll-/Referenzmaterialien)
div	6b		beta-casein (161 bp)	Extraktionen nach ASU § 64 LFGB L 15.05-1 1. SDS/Guanidiniumchlorid-Puffer mit ProtK, Aufreinigung mittels Wizard-Kit der Fa. Promega; 2. CTAB basiert mit ProtK und Glycogen; Konvent. PCR mit 33 Zyklen	NG für Matrices Milchprodukte/Käsen nicht abschließend validiert (fehlende Kontroll-/Referenzmaterialien)
div	7				
div	9			M&N Food Kit. Quantinova Mastermix	
div	14			Wizard; real-time PCR	

5.1.5 DNA-basierte Methoden: Wiederkäuernachweis

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
div	10	27.7.20	positiv	positiv	positiv	positiv			

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
div	10			nach Verordnung (EU) Nr. 51/2013	

5.1.6 DNA-basierte Methoden: Rindernachweis (Büffel/Kuh)

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
10	div	27.7.20	positiv	positiv	positiv	positiv			

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
div	10				Real-time PCR, eigene Methode

5.1.7 Protein-basierte Methoden: Büffel

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
MALDI-TOF-MS	9		-	-	-	positiv	n.a.		
MALDI-TOF-MS	12	13.8.20	negativ	negativ	negativ	positiv	5	Protein	

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
MALDI-TOF-MS	9		Fingerprinting	Aufarbeitung mit organischen Lösemitteln, Aufzeichnen des Gesamtspektrums am MALDI-TOF. Evaluation des Fingerprints anhand eigener DB + Einzelspektrumanalyse für Spurennachweis	http://malDI-tof-ms-user-platform.ua-bw.de/docs/CVUAS_Stoll_Rau_Tierarten_MALDItoFMS_20150914.pdf
MALDI-TOF-MS	12			Maldi ToF MS; Biotyper microflex LT/SH, Bruker mit selbsterstellten Datenbankeinträgen	

5.1.8 Protein-basierte Methoden: Kuh

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
EP	14	7.8.20	positiv	positiv	positiv	positiv	10	Protein	EuroProxima Milk Fraud/Bovine ELISA
IEF	5		positiv	positiv	positiv	-	2		IEF, Fertiggeplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)
MALDI-TOF-MS	9		positiv	positiv	positiv	positiv	0,1	Lebensmittel	MALDI-TOF-MS mit Einzelspektrumsanalyse
MALDI-TOF-MS	12	13.8.20	positiv	positiv	positiv	positiv	5	Protein	

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
EP	14	5171BKCM	kappa-Casein		
IEF	5				Keine Unterscheidung von Büffel/Kuh
MALDI-TOF-MS	9		Fingerprinting	Aufarbeitung mit organischen Lösemitteln, Aufzeichnen des Gesamtspektrums am MALDI-TOF. Evaluation des Fingerprints anhand eigener DB + Einzelspektrumanalyse für Spurennachweis	http://maldi-tof-ms-user-platform.ua-bw.de/docs/CVJAS_Stoll_Rau_Tierarten_MALDITOFMS_20150914.pdf
MALDI-TOF-MS	12			Maldi ToF MS; Biotyper microflex LT/SH, Bruker mit selbsterstellten Datenbankeinträgen	

5.1.9 Protein-basierte Methoden: Schaf

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
IEF	5		positiv	negativ	negativ	negativ	5		IEF, Fertiggeplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)
MALDI-TOF-MS	9		positiv	negativ	positiv	negativ	n.a.	Lebensmittel	MALDI-TOF-MS mit Einzelspektrumsanalyse

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
IEF	5				
MALDI-TOF-MS	9		Fingerprinting	Aufarbeitung mit organischen Lösemitteln, Aufzeichnen des Gesamtspektrums am MALDI-TOF. Evaluation des Fingerprints anhand eigener DB + Einzelspektrumanalyse für Spurennachweis	Spuren von Schafkäse

5.1.10 Protein-basierte Methoden: Ziege

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
IEF	5		negativ	positiv	negativ	negativ	5		IEF, Fertiggelplatten Firma Serva (Precotes pH 3-10 und pH 4-6)

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
IEF	5				

5.1.11 Protein-basierte Methoden: Rind (Büffel/Kuh)

Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			qualitativ	qualitativ	qualitativ	qualitativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
EP	16		positiv	positiv	positiv	positiv	1	Kuhmilch/Käse	EuroProxima R-Biopharm

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
EP	16	5171BKCC, gemäß Anleitung	bovines para-kappa Casein	Charge VN5962	(Test kann nicht zwischen Milch vom Rind und Milch vom Büffel differenzieren)

5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

EP-Nummer	DLA ptAUS3 (2020)
EP-Name	Tierarten-Screening III – 4 Proben qualitativ: Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch in Milchprodukt (Mozzarella und Hirtenkäse, gefriergetrocknete Mischungen)
Probenmatrix	Proben 1-2: Hirtenkäse (gefriergetrocknet), Proben 3-4: Mozzarella (gefriergetrocknet)
Probenzahl und Probenmenge	4 unterschiedliche Proben 1-4: je 25 g
Lagerungsinformation	Proben 1-4: gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit tiefgefroren < -18 °C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter/Matrix	qualitativ: Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch Proben 1-4: ca. 5-20%
Untersuchungsmethoden	Die Analysemethoden sind freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe 1 - 4 je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	positiv / negativ (Nachweisgrenze in %)
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Abgabetermin	spätestens 25. September 2020
Auswertebericht	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Alexandra Scharf M.Sc.

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country

[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. Lebensmittelchemische Gesellschaft [LChG der GDCh] „Stellungnahme der AG zu: Methoden zur Differenzierung von Tierarten in Lebensmitteln - Status quo, (2016), Food Chemistry Society of the GDCh]
20. ASU nach § 35 LMBG Untersuchung von Lebensmitteln: Nachweis der Tierart bei Milch, Milchprodukten und Käse mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung (PAGIF). Methode L 01.00-39 (1995)
21. Meister, A., Janzen, H., Kauer, T., Schiffer, B., & Schlicht, C. PAGIF method to verify animal species in dairy products: improved separation performance, sensitivity and efficiency. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 14(4), 421-428 (2019)

DLA ptAUS3 (2020) - Tierarten-Screening III

Von 18 Teilnehmern haben 17 Teilnehmer mindestens ein DNA-basiertes Ergebnis oder ein Protein-basiertes Ergebnis eingereicht. Die Auswertung der 4 Proben erfolgte rein qualitativ hinsichtlich der Parameter Büffelmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Ziegenmilch. Es wurden jeweils die Übereinstimmungen bezüglich der Konsenswerte der Teilnehmer und bezüglich der Dotierungen der Proben bewertet. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

7 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Frankreich, Schweiz, Niederlande).