



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL01 (2021)

Allergene I:

Milch (Casein) und Soja

in Saucenpulver

DLA - Proficiency Tests GmbH

*Hauptstr. 80
23845 Oering/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)

<p>EP-Anbieter PT-Provider</p>	<p>DLA - Proficiency Tests GmbH Hauptstr. 80, 23845 Oering, 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>
<p>EP-Nummer PT-Number</p>	<p>DLA ptAL01 (2021)</p>
<p>EP-Koordinator PT-Coordinator</p>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf</p>
<p>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</p>	<p>Abschlussbericht / Final report (16. Juli 2021)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<p>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</p>	<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: 16. Juli 2021</p>
<p>Unteraufträge Subcontractors</p>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination</p>
<p>Vertraulichkeit Confidentiality</p>	<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>
<p>Akkreditierung Accreditation</p>	<p>nach / according to: ISO/IEC 17.043-2010</p> <p>Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen Conformity Assessment - General Requirements for Proficiency Testing</p> <p>Die Akkreditierung gilt für den in der Urkundenanlage genannten Umfang. The accreditation is valid for the scope of the annex to the certificate of accreditation</p>



Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-EP-21534-01-00

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S^*/opt	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Milch.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein.....	21
4.1.2 ELISA-Ergebnisse: Milchprotein, gesamt.....	29
4.1.3 ELISA-Ergebnisse: andere.....	37
4.1.4 PCR-Ergebnisse: Milch.....	38
4.2 Vergleichsuntersuchung Soja.....	39
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein).....	39
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Soja.....	49
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	52
5. Dokumentation.....	54
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	54
5.1.1 ELISA: β -Lactoglobulin.....	54
5.1.2 ELISA: Casein.....	55
5.1.3 ELISA: Milchprotein.....	57
5.1.4 ELISA: Soja.....	58
5.1.5 PCR: Milch.....	60
5.1.6 PCR: Soja.....	61
5.2 Homogenität.....	62
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	62
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	63
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	64
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	65

1. Einleitung

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

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

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

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

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

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

Nach Zerkleinern und Sieben der Rohstoffe wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Magermilchpulver und Sojamehl enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle zerkleinert und gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

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

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Gemüsewürzsauce Zutaten: Stärke (Kartoffel), Salz, Gemüse (Zwiebeln, Karotten, Lauch, Pastinaken, Kartoffeln, Sellerie, Knoblauch, Petersilie), Maisstärke, Roh-Rohrzucker, Kräuter, Gewürze, Sonnenblumenöl, Geschmacksverstärker (Natriumglutamat, Dinatriuminosinat), Trennmittel: Siliciumdioxid; natürliches Bockshornklee-Aroma	99,9 g/100 g	100 g/100g	-
Kartoffelpüree Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100 g
<i>Milch:</i> Magermilchpulver-Mischung (9 Produkte aus Europa, USA) - als Magermilchpulver* - davon 33,0% Gesamtprotein** - davon Casein*** - davon β -Lactoglobulin***	44,7 mg/kg 14,8 mg/kg 11,8 mg/kg 4,5 mg/kg	-	55,2 mg/kg 18,2 mg/kg 14,6 mg/kg 5,5 mg/kg
<i>Soja:</i> Sojamehl-Mischung, getoastet (6 Produkte aus Asien, Europa, Nordamerika) - als Sojamehl* - davon 37,8% Gesamtprotein** - davon Soja Trypsin Inhibitor***	59,8 mg/kg 22,6 mg/kg 3,4 mg/kg	-	62,8 mg/kg 23,7 mg/kg 3,6 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin	<0,1 g/100 g	-	<0,1 g/100 g

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

** Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,38 für Milchprotein und F=5,71 für Sojaprotein)

*** Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10% β -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [36]; ca. 15% Soja Trypsin Inhibitor in Sojaprotein [37])

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben A und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 86% bzw. 91% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,89 bzw. 0,78 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A

Durchführung der Homogenitätstests

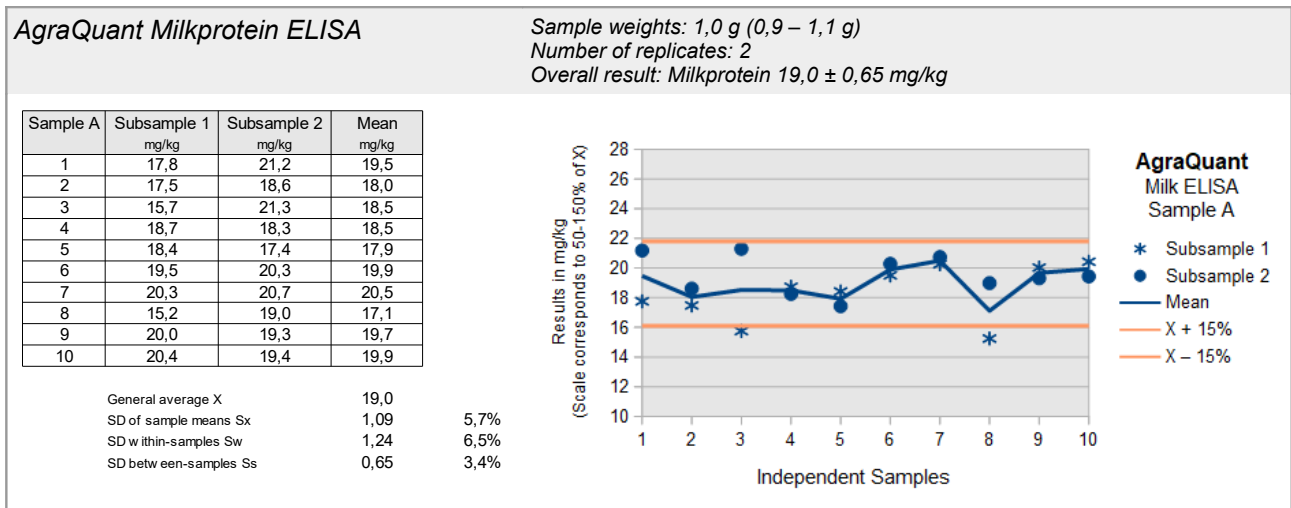
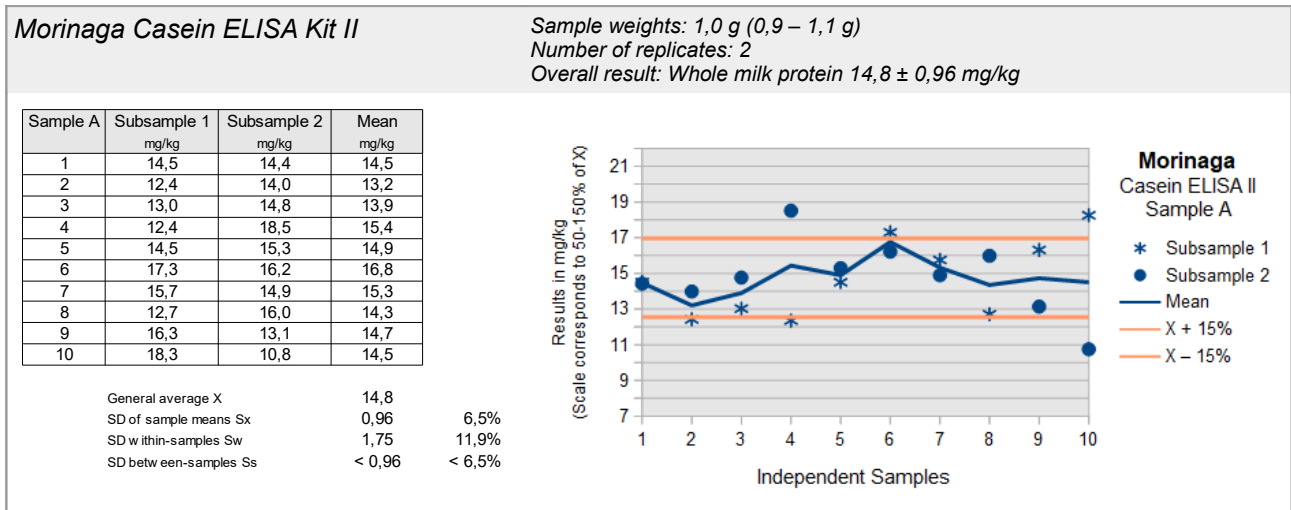
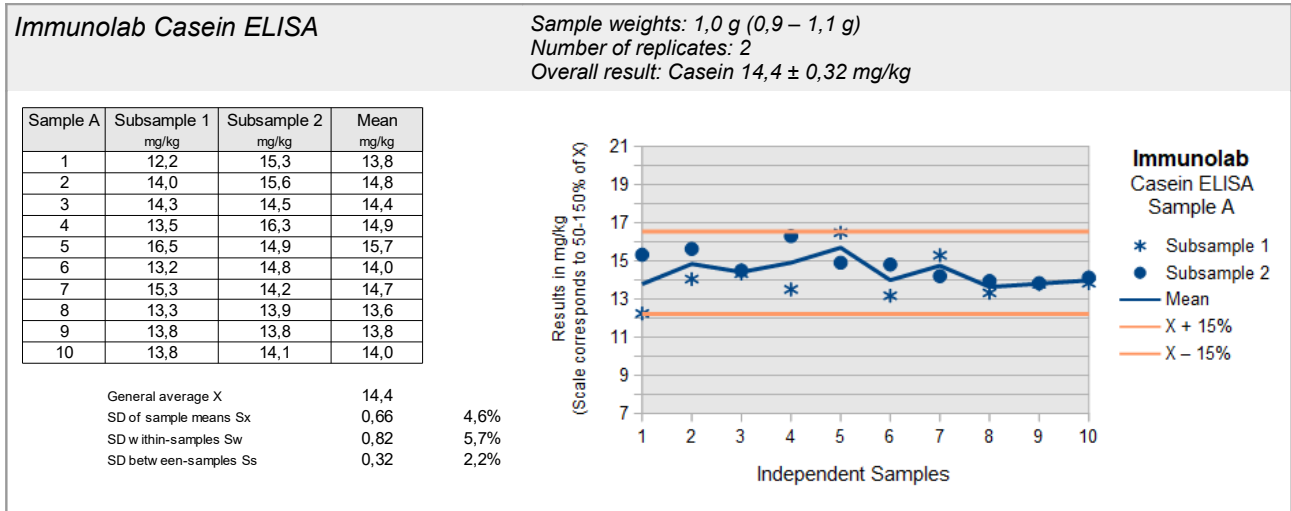
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur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

Bewertung der Homogenität

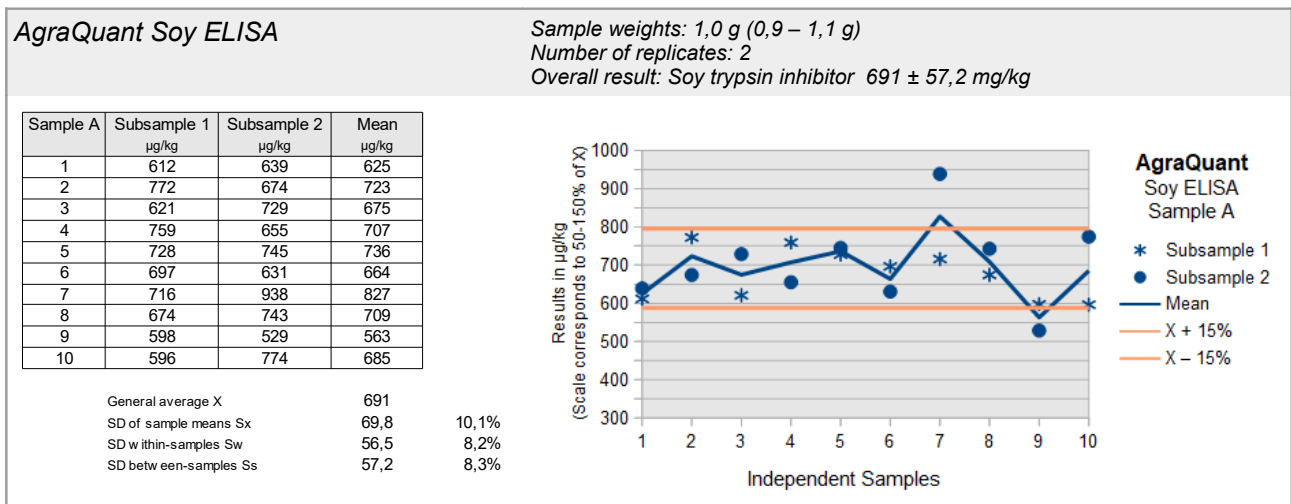
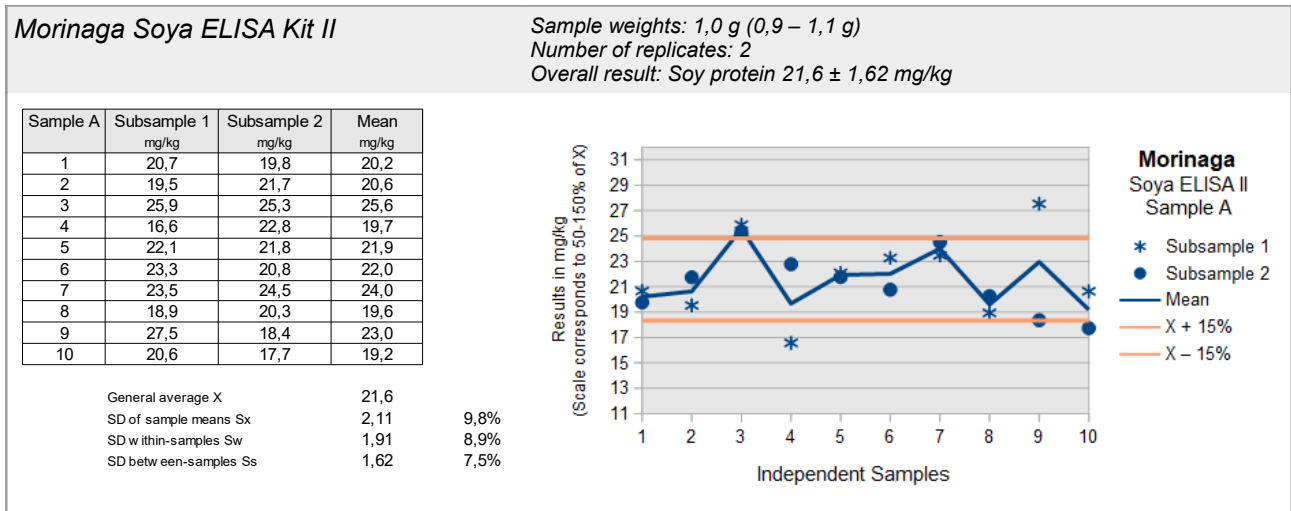
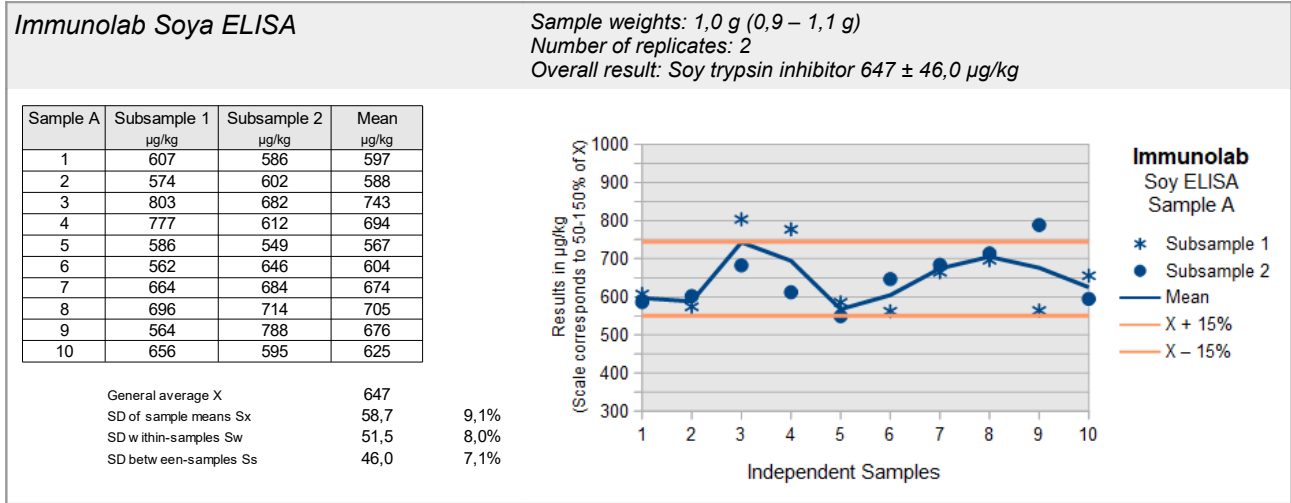
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $S_s \leq 15\%$ („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe A in allen ELISA-Tests für Milchprotein (Casein) und Soja (Immunolab, Morinaga und AgraQuant)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

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

ELISA-Tests: Homogenität Milch (Casein) / Homogeneity Milk (Casein)



ELISA-Tests: Homogenität Soja / Homogeneity Soya



2.1.2 Stabilität

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

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,47$ (13°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 7. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 16. April 2021.

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

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

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Alle 21 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

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

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

Für quantitative Ergebnisse der Dotierungsniveauprobe und der dotierten Probe wurden anhand der bekannten Zusammensetzung Wiederfindungsraten berechnet und zur Information angegeben. Hierbei erfolgte keine statistische Auswertung. Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen ausschließlich einer Einschätzung von Matrix- und/oder Prozessierungseinflüssen. Die ELISA- und PCR-Ergebnisse wurden qualitativ anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern $\geq 75\%$ positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt.

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

Für die Auswertung wurde als zugewiesener Wert (X_{pt}) der **robuste Mittelwert** der eingesandten Ergebnisse verwendet („Konsenswert der Teilnehmer“). Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3]. Liegen < 12 quantitative Ergebnisse und eine erhöhte Differenz zwischen robustem Mittelwert und Median vor, ist ggf. der **Median** als zugewiesener Wert zu verwenden (Kriterium: $\Delta \text{Median} - \text{rob. Mittelwert} > 0,3 \sigma_{pt}$) [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 $> 25 \text{ mg/kg}$ oder $< 2,5 \text{ mg/kg}$) 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 Einzelmethoden** - $S^*_{METHOD\ i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

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

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

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

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

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

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

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

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 - 33% für die ELISA-Methoden und 18 - 37% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

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

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Soja	Weizenmehl	107	107 %	63 %	-	31 %	-	rt-PCR ASU 16.01-9
	Maismehl	145	145 %	34 %	-	24 %	-	
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	114,1	114 %	-	14,7%	22,2%	19,6%	rt-PCR ASU 08.00-65
		64,4	161 %	-	27,7%	41,4%	36,5%	
Sojamehl	Wurst, autoklaviert	33,1	33,1 %	-	21,5%	30,8	26,8%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	82,0	82 %	-	17,3%	24,1%	20,8%	rt-PCR ASU 08.00-59
		39,6	99 %	-	22,9%	31,8%	27,4%	
		19,6	98 %	-	22,9%	24,0%	17,7%	
		9,3	93 %	-	31,1%	30,2%	-	
Weizen + Roggen	Brühwurst (100°C, 60 min)	96,1	120 %	-	21,3%	35,4%	32,0%	rt-PCR ASU 08.00-66
Weizen + Roggen	Wurst, autoklaviert	74,9	11,0 %	-	24,6%	32,7%	27,7%	rt-PCR ASU 08.00-66

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.

3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

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

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

3.6 z'-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S*/ σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

Die Rückführbarkeit des zugewiesenen Wertes wird anhand des Konsenswertes

als robuster Mittelwert der Teilnehmerergebnisse gewährleistet.

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

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

4. Ergebnisse

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

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

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

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

Um die **Vergleichbarkeit von quantitativen Ergebnissen** zu gewährleisten, wurden Teilnehmerergebnisse mit unterschiedlichen Angaben (z.B. als Protein oder allergenes Lebensmittel) soweit möglich von DLA harmonisiert.

Casein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver** angegeben wurden, sind in **Casein** umgerechnet worden. Es wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Casein in Magermilchpulver berücksichtigt (ELISA-Systems Test-Kit Manual: 25,6%).

Casein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Milchprotein (gesamt)** angegeben wurden, sind mit Literaturangaben [42] von 80% Casein in Gesamtmilchprotein ebenfalls in Casein umgerechnet worden.

Milchprotein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver** angegeben wurden, sind in **Gesamt-Milchprotein** umgerechnet worden. Soweit vorhanden wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Gesamt-Milchprotein in Magermilchpulver berücksichtigt (Neogen Allergen-Handbuch: 35,1%).

ELISA-Ergebnisse, die als **Sojamehl/Sojabohne** angegeben wurden, sind in **Sojaprotein** umgerechnet worden. Soweit vorhanden wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Gesamtprotein in Sojamehl berücksichtigt (Neogen Allergen-Handbuch: 47,01%).

ELISA-Ergebnisse, die als **Sojatrypsinihibitor (STI)** angegeben wurden, sind gemäß Test-Kit Angaben in **Sojaprotein** umgerechnet worden (Bio-Check Manual: Faktor 41,7 (600 µg/kg Trypsinihibitor entsprechen 25 mg/kg nicht erhitztem Sojamehl)).

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

wurde die Übereinstimmung mit den Konsens-Werten in Prozent angegeben.

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

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

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

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

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

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Milch

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein

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		
4	positiv	7,00	negativ	<0,2	2/2 (100%)	AQ	
18a	positiv	14,5	negativ	<0,2	2/2 (100%)	BC	
1	positiv	>2,6	negativ	<0,26	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
16	positiv	9,28	negativ	<2,5	2/2 (100%)	IL	
6	positiv	11,0	negativ	<0,25	2/2 (100%)	MI-II	
17	positiv	13,4	negativ	<0,25	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	positiv	20,3	negativ	< 2,5	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	RS-F	
12	positiv	17,0	negativ	<0,3	2/2 (100%)	RS-F	
14	positiv	4,10	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
15	positiv	15,7	negativ	<0,12	2/2 (100%)	RS-F	
18b	positiv	38,3	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
13	positiv	15,0	negativ	< 0,2	2/2 (100%)	SP	
20	positiv		negativ		2/2 (100%)	SP	
21	positiv		negativ		2/2 (100%)	SP	
22	positiv		negativ		2/2 (100%)	SP	
2	positiv	48,0	negativ	< 2,5	2/2 (100%)	VT	Ergebnisangabe als MMP?

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	17	0
Anzahl negativ	0	17
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 ES = ELISA-Systems
 IL = Immunolab
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
 RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z'-Score X _{pt} ^{ALL}	Methode	Hinweis
4	7,00	-1,5	AQ	
18a	14,5	0,45	BC	
1	>2,6		ES	Ergebnis umgerechnet °
16	9,28	-0,91	IL	
6	11,0	-0,46	MI-II	
17	13,4	0,16	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	20,3	2,0	RS-F	
11			RS-F	
12	17,0	1,1	RS-F	
14	4,10	-2,3	RS-F	
15	15,7	0,76	RS-F	
18b	38,3	6,6	RS-F	Ausreißer X _{Alle}
13	15,0	0,58	SP	
20			SP	
21			SP	
22			SP	
2	48,0	9,2	VT	Ausreißer X _{Alle} , Ergebnisangabe als MMP?

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

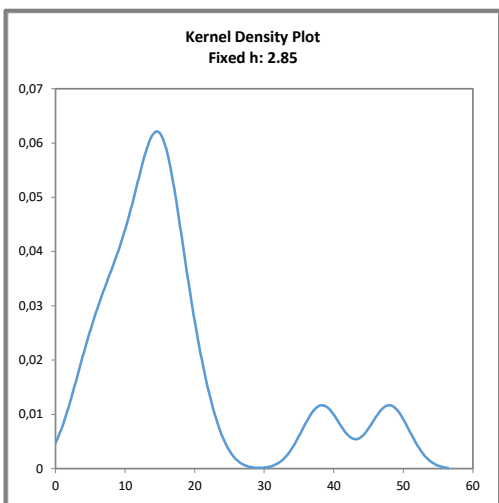


Abb. / Fig. 1:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit zwei kleineren Nebenpeaks, die auf zwei Ausreißerergebnisse zurückgehen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein**Probe A**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}
Anzahl der Messergebnisse [°]	10
Anzahl der Ausreißer	2
Mittelwert	12,7
Median	14,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	12,8
Robuste Standardabweichung (S^*)	5,43
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	3,85
Untere Grenze des Zielbereichs	5,08
Obere Grenze des Zielbereichs	20,5
Quotient S^*/σ_{pt}'	1,4
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,15
Ergebnisse im Zielbereich	9
Prozent im Zielbereich	90

[°] ohne Ergebnisse Nr. 2 u. 18b (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (höhere Werte gehen auf Einzelergebnisse zurück).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine leicht erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt}' knapp unter 2,0 auf. Aufgrund der Vielzahl verschiedener Testmethoden mit geringer Anzahl von Einzelergebnissen wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet.

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 108 % vom Zusatzniveau von Casein zu Probe A, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein" S.28).

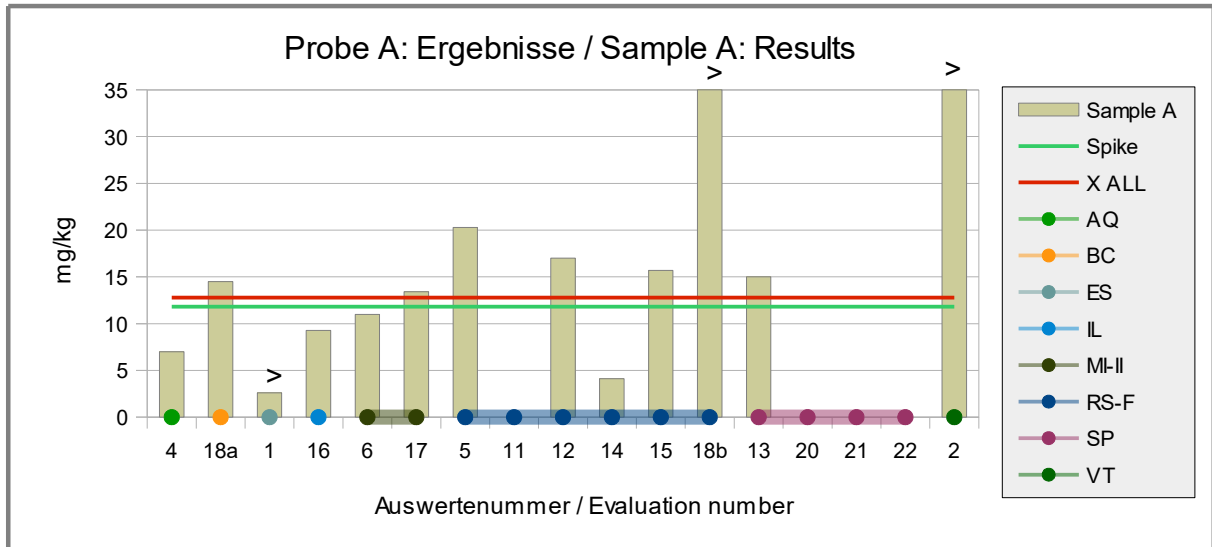


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Milch (als Casein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

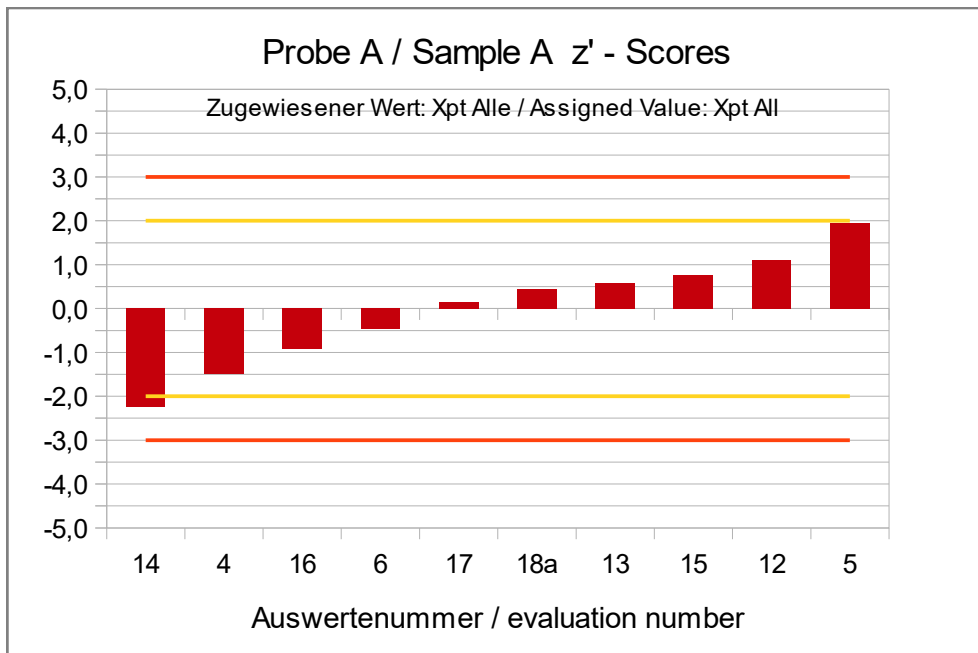


Abb./Fig. 3:
 z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score X _{ptALL}	Methode	Hinweis
4	12,1	-1,4	AQ	
18a	22,1	0,84	BC	
1	>2,6		ES	Ergebnis umgerechnet °
16	15,5	-0,62	IL	
6	15,0	-0,72	MI-II	
17	14,2	-0,89	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	27,5	2,0	RS-F	
11			RS-F	
12	21,0	0,60	RS-F	
14	14,1	-0,91	RS-F	
15	18,2	-0,02	RS-F	
18b	53,5	7,7	RS-F	Ausreißer XAlle
13	24,0	1,3	SP	
20			SP	
21			SP	
22			SP	
2	53,0	7,6	VT	Ausreißer XAlle, Ergebnisangabe als MMP?

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

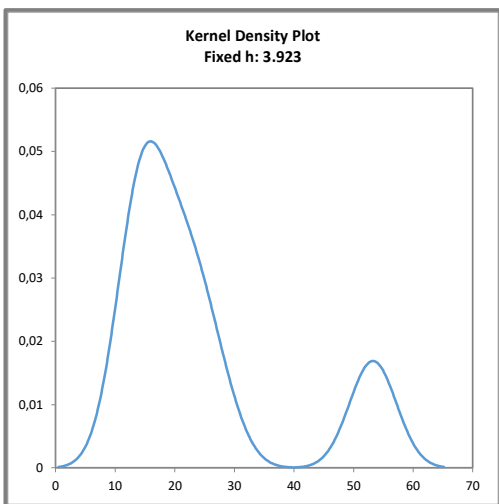


Abb. / Fig. 4:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einem kleineren Nebenpeak, der auf zwei Ausreißerergebnisse zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse ^o	10
Anzahl der Ausreißer	2
Mittelwert	18,4
Median	16,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	18,3
Robuste Standardabweichung (S^*)	5,55
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,57
Untere Grenze des Zielbereichs	9,14
Obere Grenze des Zielbereichs	27,4
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,19
Ergebnisse im Zielbereich	10
Prozent im Zielbereich	100

* ohne Ergebnisse Nr. 2 u. 18b (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (höhere Werte gehen auf Einzelergebnisse zurück).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine normale Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} unter 2,0 auf.

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 125 % vom Zusatzniveau von Casein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein" S.28).

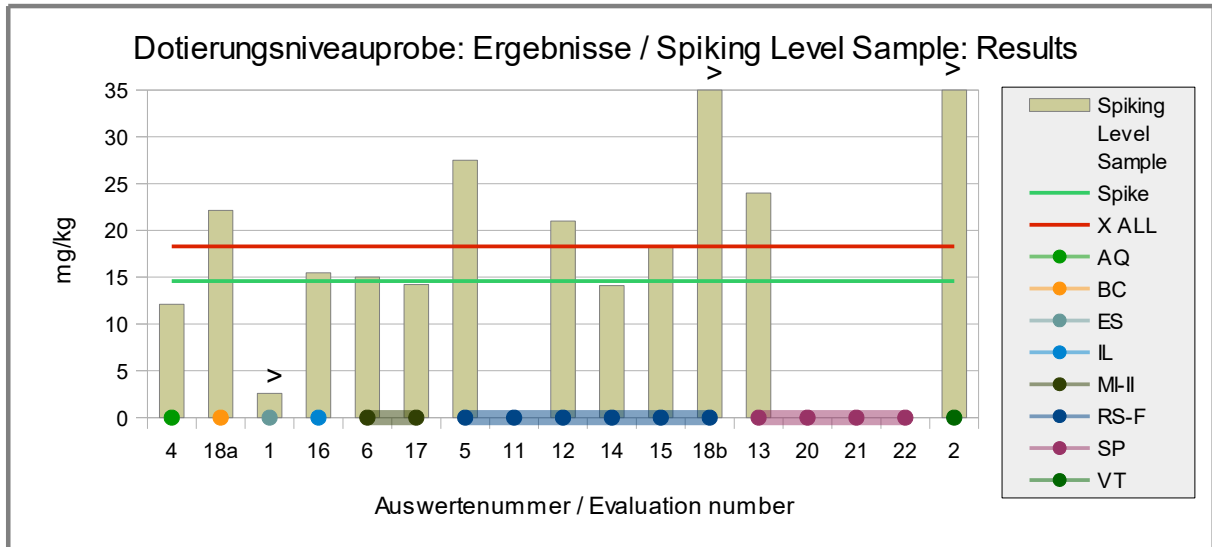


Abb./Fig. 5: ELISA-Ergebnisse Casein
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

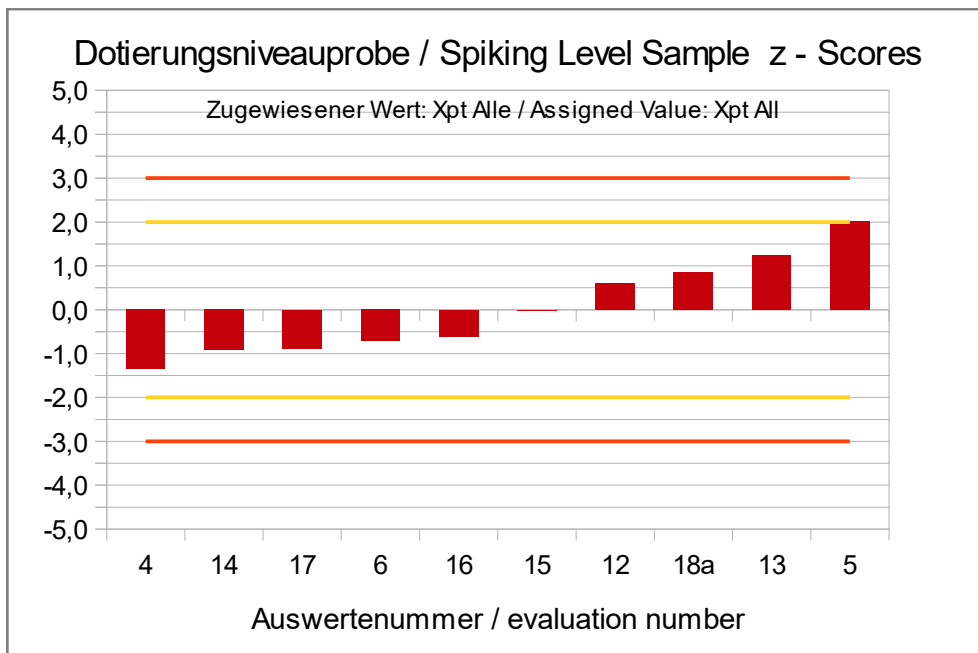


Abb./Fig. 6: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten ELISA für Casein:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
4	12,1	83	-0,68	7,00	59	-1,6	AQ	
18a	22,1	152	2,1	14,5	123	0,92	BC	
1	>2,6			>2,6			ES	Ergebnis umgerechnet °
16	15,5	106	0,24	9,28	79	-0,85	IL	
6	15,0	103	0,11	11,0	93	-0,27	MI-II	
17	14,2	97	-0,11	13,4	114	0,54	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	27,5	188	3,5	20,3	172	2,9	RS-F	
11							RS-F	
12	21,0	144	1,8	17,0	144	1,8	RS-F	
14	14,1	97	-0,14	4,10	35	-2,6	RS-F	
15	18,2	125	1,0	15,7	133	1,3	RS-F	
18b	53,5	367	11	38,3	324	9,0	RS-F	
13	24,0	164	2,6	15,0	127	1,1	SP	
20							SP	
21							SP	
22							SP	
2	53,0	363	10,52	48,0	407	12	VT	Ergebnisangabe als MMP?

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	7	Anzahl im AB	8
Prozent im AB	58	Prozent im AB	67

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Casein, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

58% (7) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 67% (8) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.1.2 ELISA-Ergebnisse: Milchprotein, gesamt

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		
18	positiv	6,88	negativ	<0,4	2/2 (100%)	AQ	
14	positiv	6,20	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
6	-		-			SP	
21	positiv		negativ		2/2 (100%)	SP	
3	positiv	16,2	negativ	n.n.	2/2 (100%)	VT	
17	positiv	8,81	negativ	<0,88	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
19	positiv	13,7	negativ	<0,88	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	0
Anzahl negativ	0	6
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

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

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

Auswertenummer	Milchprotein	z'-Score $X_{pt,ALL}$	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
18	6,88	-0,92	AQ	
14	6,20	-1,1	RS-F	
6			SP	
21			SP	
3	16,2	1,5	VT	
17	8,81	-0,41	VT	Ergebnis umgerechnet °
19	13,7	0,88	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

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

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl von < 8 Ergebnissen nicht vorgenommen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Milch (als Milchprotein)

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	10,4
Median	8,81
Robuster Mittelwert (X_{pt})	10,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,98
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	3,80
Untere Grenze des Zielbereichs	2,76
Obere Grenze des Zielbereichs	18,0
Quotient S^*/σ_{pt}'	1,3
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	2,78
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	100

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine leicht erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt}' knapp unter 2,0 auf. Aufgrund verschiedener Testmethoden mit geringer Anzahl von Einzelergebnissen wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet.

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 70 % vom Zusatzniveau von Milchprotein zu Probe A, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Milchprotein" S.36).

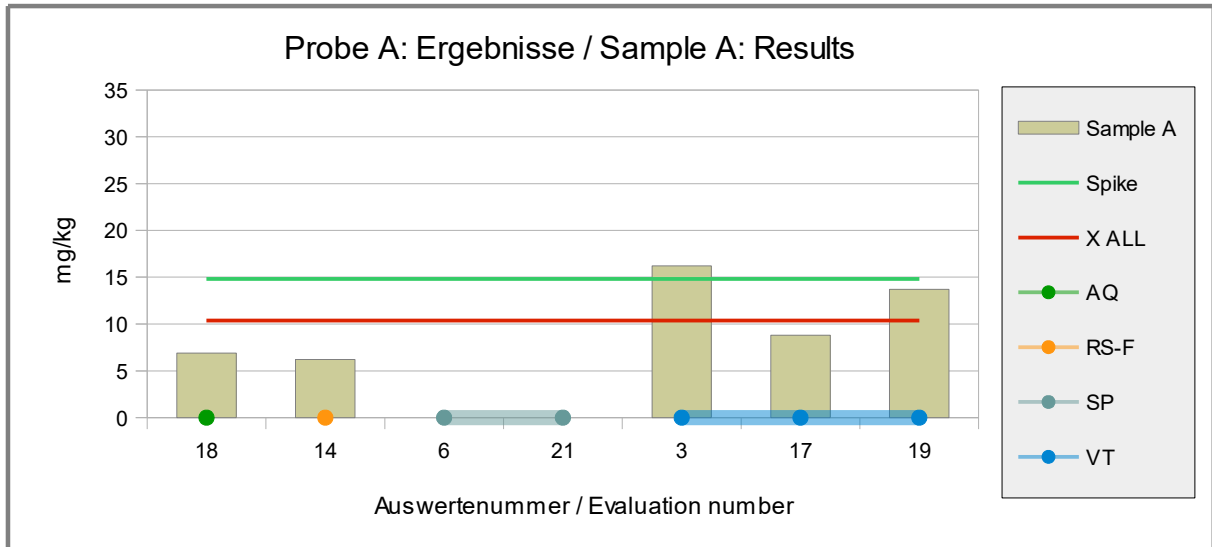


Abb./Fig. 7: ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

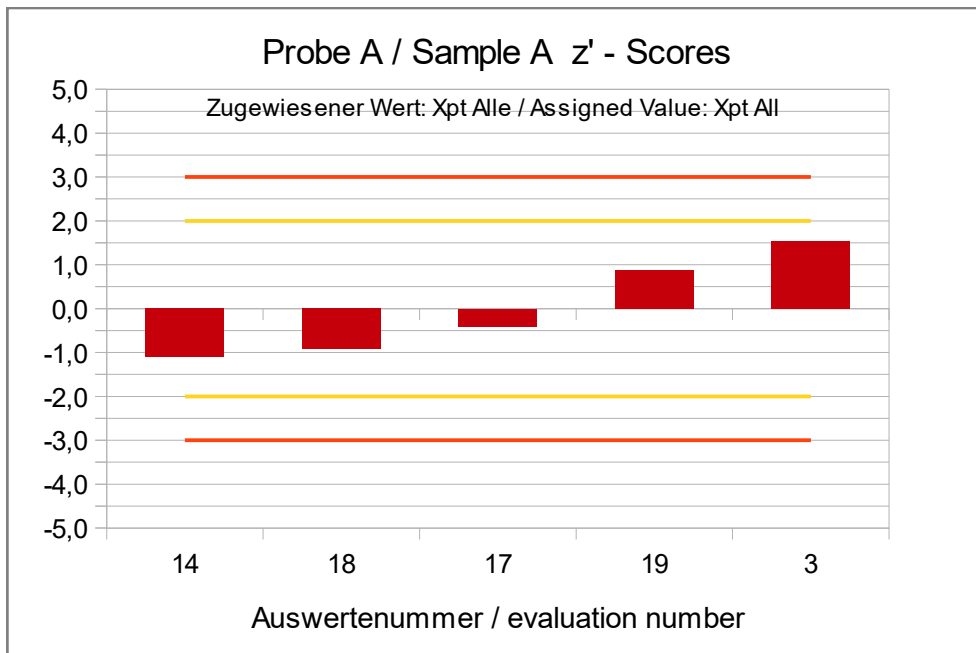


Abb./Fig. 8: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert Ergebnisse aller Methoden

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

Auswertenummer	Milchprotein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
18	7,48	-1,1	AQ	
14	4,70	-1,6	RS-F	
6			SP	
21			SP	
3	20,1	1,3	VT	
17	15,8	0,50	VT	Ergebnis umgerechnet °
19	17,6	0,83	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

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

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl von < 8 Ergebnissen nicht vorgenommen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Milch (als Milchprotein)

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

Dotierungsniveauprobe

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	13,1
Median	15,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	13,1
Robuste Standardabweichung (S^*)	7,58
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	5,36
Untere Grenze des Zielbereichs	2,41
Obere Grenze des Zielbereichs	23,9
Quotient S^*/σ_{pt}'	1,4
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,24
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	100

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine leicht erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt}' knapp unter 2,0 auf. Aufgrund verschiedener Testmethoden mit geringer Anzahl von Einzelergebnissen wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet.

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 72 % vom Zusatzniveau von Milchprotein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Milchprotein", s. S.36).

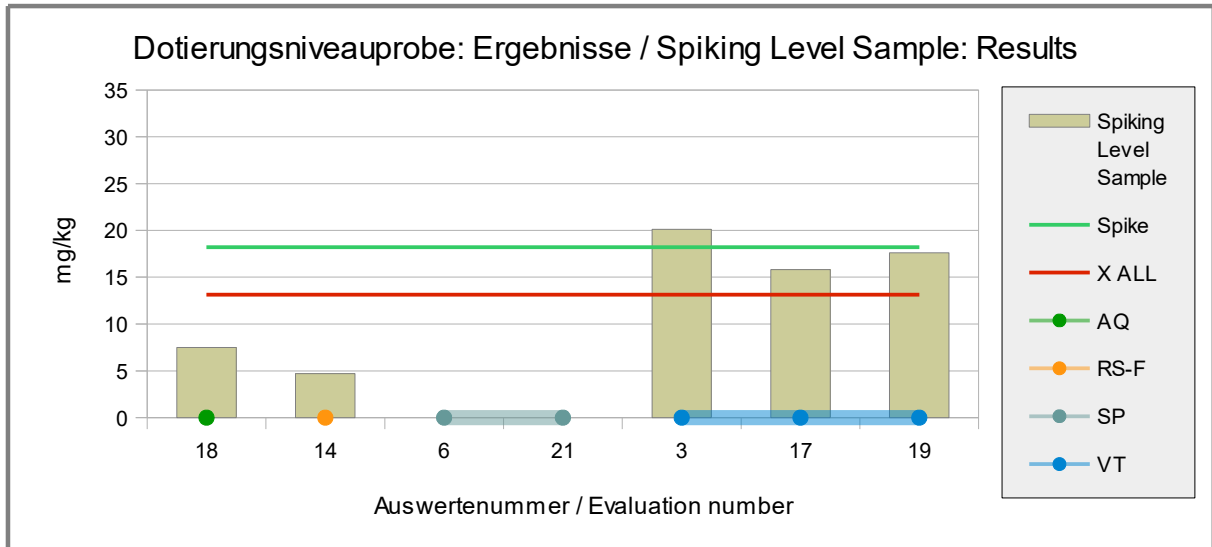


Abb./Fig. 9: ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

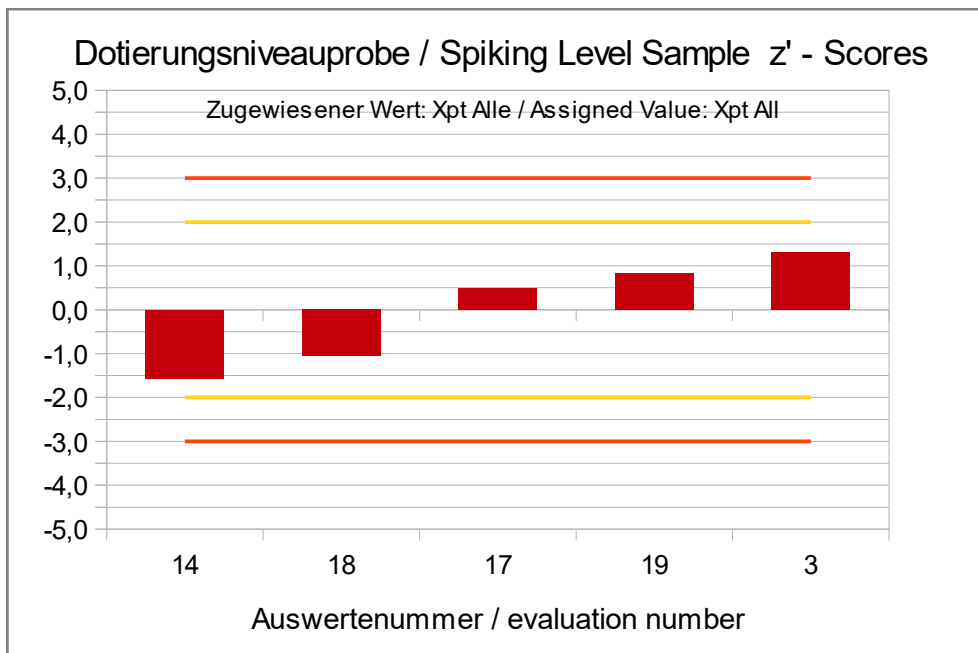


Abb./Fig. 10: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Milch als Milchprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten ELISA für Milchprotein:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
18	7,48	41	-2,4	6,88	46	-2,1	AQ	
14	4,70	26	-3,0	6,20	42	-2,3	RS-F	
6							SP	
21							SP	
3	20,1	110	0,42	16,2	109	0,38	VT	
17	15,8	87	-0,53	8,81	60	-1,6	VT	Ergebnis umgerechnet °
19	17,6	97	-0,13	13,7	93	-0,30	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	3	Anzahl im AB	3
Prozent im AB	60	Prozent im AB	60

Methoden:

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

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Milchprotein, gesamt, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Milchprotein, total, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAS

Anmerkung:

Je 3 Teilnehmer haben sowohl für die Dotierungsniveauprobe als auch die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.1.3 ELISA-Ergebnisse: andere

Ein Teilnehmer hat Ergebnisse für β -Lactoglobulin eingereicht. Diese sind im Dokumentationsteil angegeben.

4.1.4 PCR-Ergebnisse: Milch

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 Dotierung		
19	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	DNA-Rind

	Probe A		Probe B	
Dotierung	positiv		negativ	

Methoden:

div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Milch	Milch	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]		
19	positiv		div	DNA-Rind

Dotierungsniveauprobe	
Dotierung	positiv

Methoden:

div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Das Ergebnis des Teilnehmers steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierungsniveauprobe.

4.2 Vergleichsuntersuchung Soja

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Soja (als Sojaprotein)

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		
4	positiv	5,45	negativ	<0,78	2/2 (100%)	BC	Ergebnis umgerechnet °
6	positiv	21,0	negativ	<1,25	2/2 (100%)	MI-II	
12	positiv	27,0	negativ	<0,3	2/2 (100%)	MI-II	
1	positiv	>20	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
5	positiv	> 20	negativ	< 2,5	2/2 (100%)	RS-F	
9	positiv	18,1	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
10	positiv	17,0	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	RS-F	
14	positiv	10,1	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
16	positiv	35,7	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
18a	positiv	31,0	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
19a	positiv	27,0	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
13	positiv	11,0	negativ	<2	2/2 (100%)	SP	
21	positiv		negativ		2/2 (100%)	SP	
2	positiv	11,8	negativ	< 1,2	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
3	positiv	16,6	negativ	n.n.	2/2 (100%)	VT	
7	positiv	31,0	negativ	0	2/2 (100%)	VT	Ergebnisangabe als Sojamehl?
8	positiv	16,0	negativ	0,16	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	positiv	12,0	negativ	< 1,2	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
18b	positiv	12,1	negativ	< 1,2	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
19b	positiv	13,6	negativ	< 1,2	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B	
Anzahl positiv	21	0	
Anzahl negativ	0	21	
Prozent positiv	100	0	
Prozent negativ	0	100	
Konsenswert	positiv	negativ	

Methoden:

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

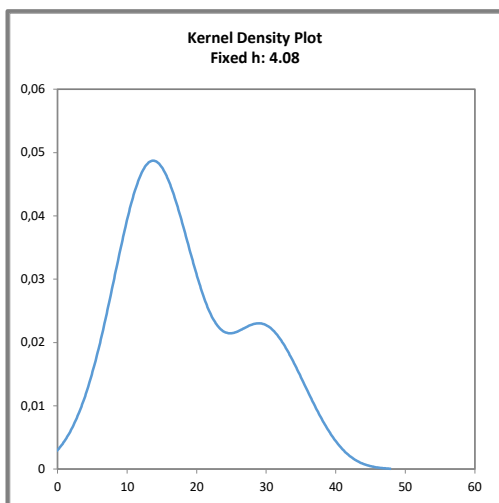
Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Soja-protein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	z-Score Xpt _{VT}	Methode	Hinweis
4	5,45	-2,8			BC	Ergebnis umgerechnet °
6	21,0	0,56			MI-II	
12	27,0	1,9			MI-II	
1	>20				RS-F	
5	> 20				RS-F	
9	18,1	-0,07	-0,87		RS-F	
10	17,0	-0,31	-1,1		RS-F	
11					RS-F	
14	10,1	-1,81	-2,3		RS-F	
16	35,7	3,75	2,2		RS-F	
18a	31,0	2,7	1,4		RS-F	
19a	27,0	1,86	0,66		RS-F	
13	11,0	-1,61			SP	
21					SP	
2	11,8	-1,44		-0,75	VT	Ergebnis umgerechnet °
3	16,6	-0,4		0,58	VT	
7	31,0	2,7		4,5	VT	Ergebnisangabe als Sojamehl?
8	16,0	-0,53		0,41	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	12,0	-1,40		-0,69	VT	Ergebnis umgerechnet °
18b	12,1	-1,4		-0,66	VT	Ergebnis umgerechnet °
19b	13,6	-1,0		-0,25	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19



Methoden:

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

Abb. / Fig. 11:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einem Hauptpeak bei ca. 15 mg/kg und einem Nebenpeak bei ca. 30 mg/kg, der auf einzelne Ergebnisse verschiedener Methoden zurückgeht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja (als Sojaprotein)

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]	Methode VT [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ IRS-F}$	$X_{pt_METHOD\ IRS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	17	6	7
Anzahl der Ausreißer	0	0	0
Mittelwert	18,6	23,2	16,2
Median	16,6	22,5	13,6
Robuster Mittelwert (X_{pt})	18,4	23,2	14,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	9,52	11,0	3,33
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	5,439	5,79	3,63
Untere Grenze des Zielbereichs	7,56	11,60	7,26
Obere Grenze des Zielbereichs	29,3	34,7	21,8
<i>Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}</i>	<i>1,8</i>	<i>1,9</i>	<i>0,92</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>2,89</i>	<i>5,60</i>	<i>1,57</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>13</i>	<i>4</i>	<i>6</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>76</i>	<i>67</i>	<i>86</i>

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen Methoden-abhängigen Unterschiede.

Aufgrund der relativ breiten Verteilung der Ergebnisse der unterschiedlichen ELISA-Methoden wurde die Auswertung über alle Ergebnisse (X_{ALL}) unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score vorgenommen. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann bei 1,8. Die Quotienten S^*/σ_{pt} der beiden anderen Auswertungen (RS-F und VT) lagen unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen z.T. im oberen 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 Methoden-übergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 81% (X_{ALL}), 103% (X_{RS-F}) und 64% (X_{VT}) vom Zusatzniveau von Sojaprotein zu Probe A, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sojaprotein" S.48).

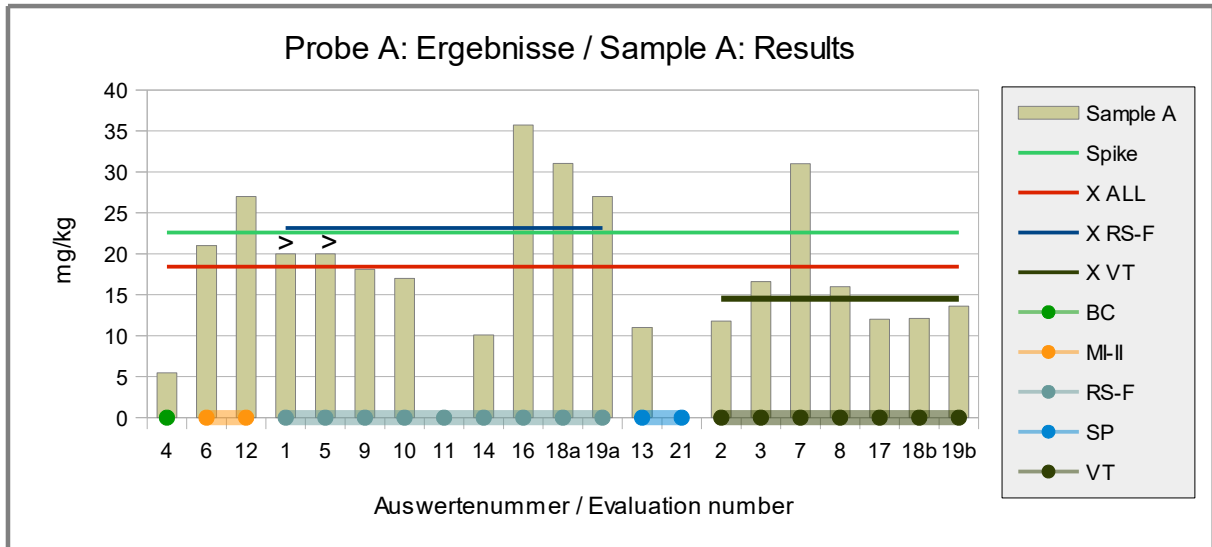


Abb./Fig. 12: ELISA-Ergebnisse Soja (als Sojaprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

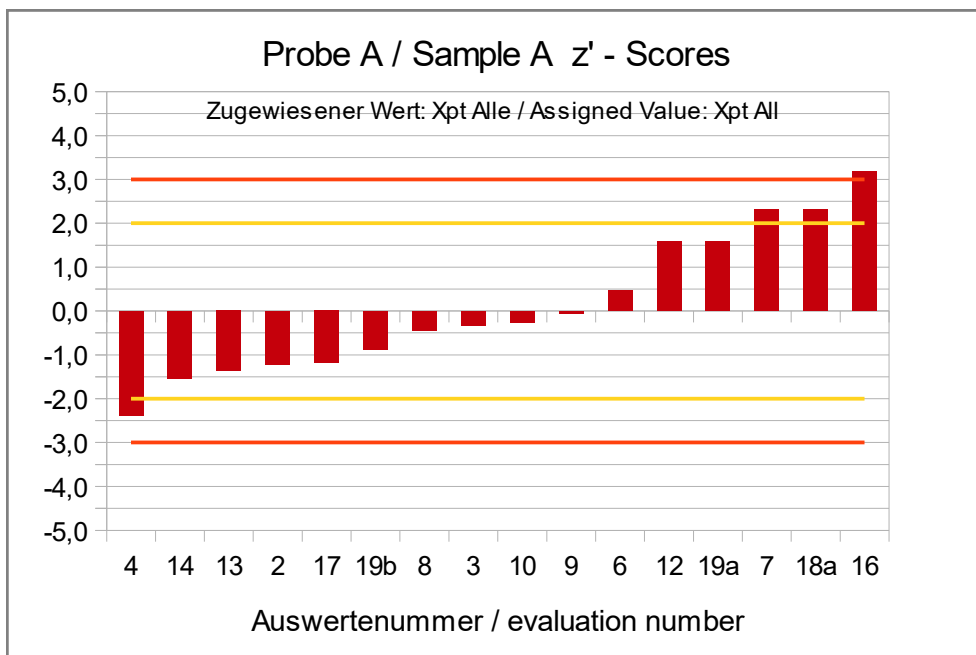


Abb./Fig. 13: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

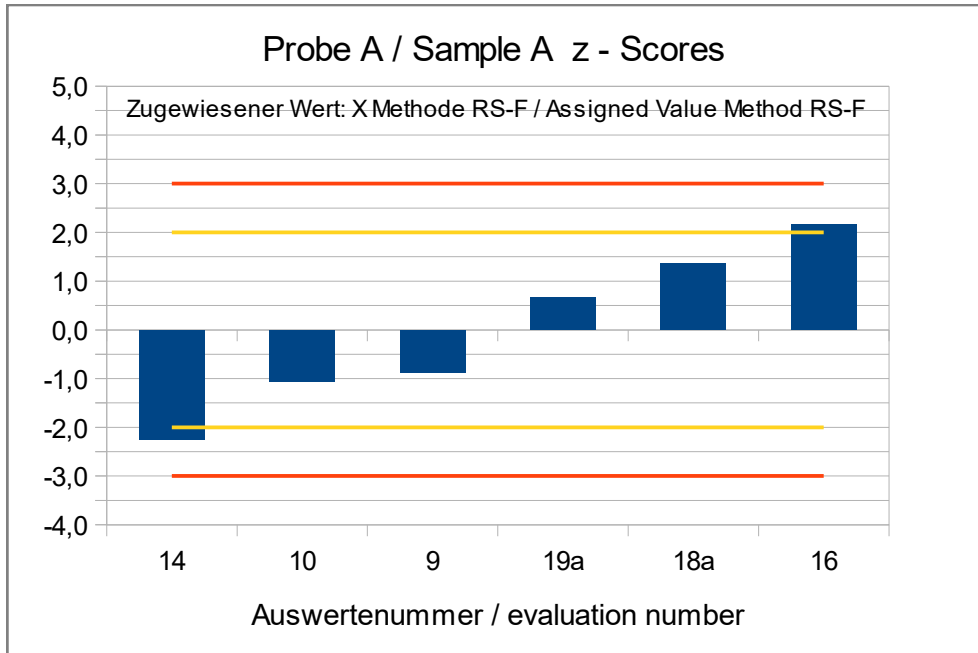


Abb./Fig. 14:

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

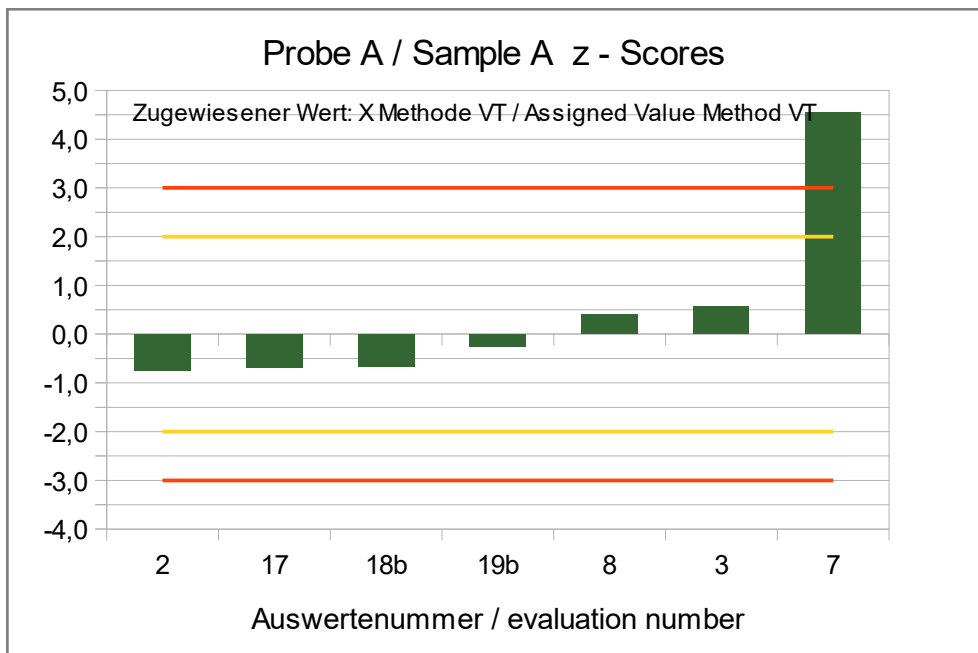


Abb./Fig. 15:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Sojaprotein [mg/kg]	z'-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	z-Score Xpt _{VT}	Methode	Hinweis
4	8,11	-2,0			BC	Ergebnis umgerechnet °
6	17,0	-0,70			MI-II	
12	33,0	1,6			MI-II	
1	>20				RS-F	
5	>20				RS-F	
9	11,8	-1,4	-2,4		RS-F	
10					RS-F	
11					RS-F	
14	12,7	-1,3	-2,3		RS-F	
16	50,4	4,1	2,9		RS-F	
18a	30,3	1,2	0,15		RS-F	
19a	41,0	2,7	1,6		RS-F	
13	26,0	0,59			SP	
21					SP	
2	12,2	-1,4		-0,82	VT	Ergebnis umgerechnet °
3	17,9	-0,57		0,66	VT	
7	44,0	3,2		7,5	VT	Ergebnisangabe als Sojamehl?
8	17,4	-0,64		0,53	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	9,20	-1,8		-1,6	VT	Ergebnis umgerechnet °
18b	14,6	-1,0		-0,20	VT	Ergebnis umgerechnet °
19b	13,2	-1,2		-0,56	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

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

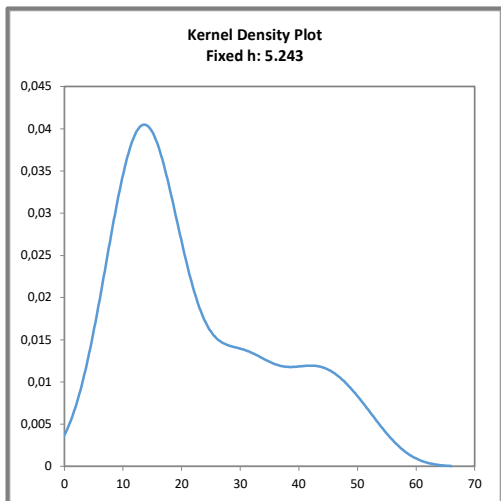


Abb. / Fig. 16:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einem Hauptpeak bei ca. 15 mg/kg und einige Einzelergebnisse im Bereich von >25 mg/kg, die auf verschiedene Methoden zurückgehen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Soja (als Sojaprotein)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]	Methode VT [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ IRS-F}$	$X_{pt_METHOD\ IRS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	16	5	7
Anzahl der Ausreißer	0	0	-
Mittelwert	22,4	29,3	18,4
Median	17,2	30,3	14,6
Robuster Mittelwert (X_{pt})	21,9	29,3	15,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,9	19,3	5,13
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	6,99	7,31	3,84
Untere Grenze des Zielbereichs	7,89	14,6	7,68
Obere Grenze des Zielbereichs	35,8	43,9	23,0
<i>Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}</i>	<i>2,0</i>	<i>2,6</i>	<i>1,3</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>4,35</i>	<i>10,8</i>	<i>2,42</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>13</i>	<i>2</i>	<i>6</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>81</i>	<i>40</i>	<i>86</i>

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS-F wiesen jeweils eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} von $> 2,0$ auf. Daher wurde für die Auswertung über alle Methoden unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann bei $2,0$. Für die Auswertung der Ergebnisse von Methode RS-F wurde darauf verzichtet, da der Zielbereich andernfalls ungeeignet groß werden würde. Die separate Auswertung der RS-F Ergebnisse erfolgte daher ausschließlich informativ. Die Verteilung der Ergebnisse von Methode VT wies eine normale Variabilität mit einem Quotienten $S^*/\sigma_{pt} < 2,0$ auf.

Die robusten Standardabweichungen liegen im normalen bis höheren Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 78% (X_{ALL}), 98% (X_{RS-F}) und 61% (X_{VT}) vom Zusatzniveau von Sojaprotein zur Dotierungsniveauprobe, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Sojaprotein" S.48).

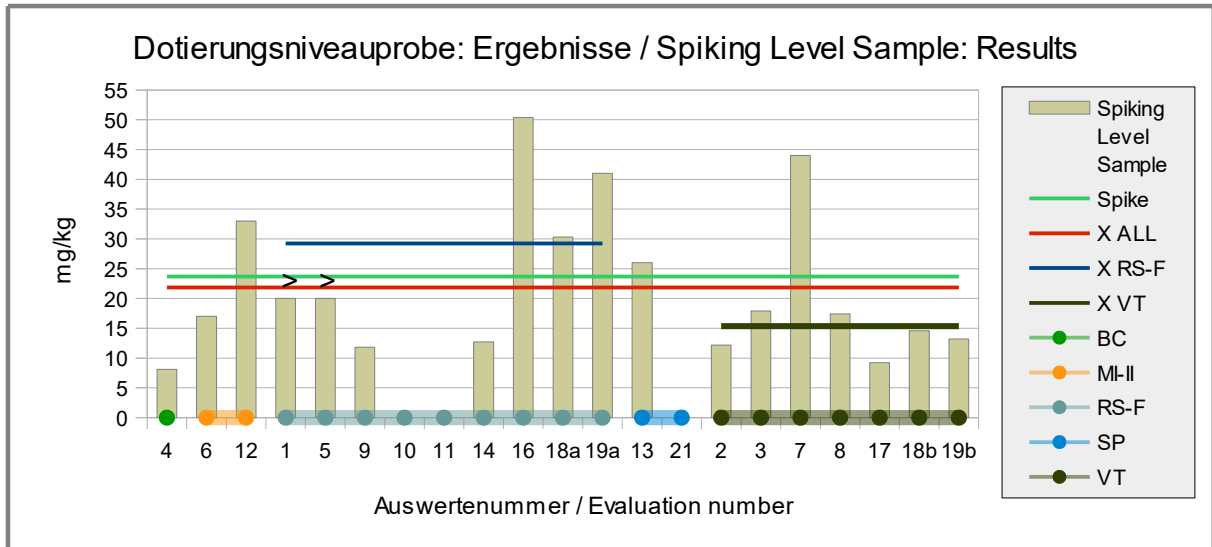


Abb./Fig. 17: ELISA-Ergebnisse Soja (als Sojaprotein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

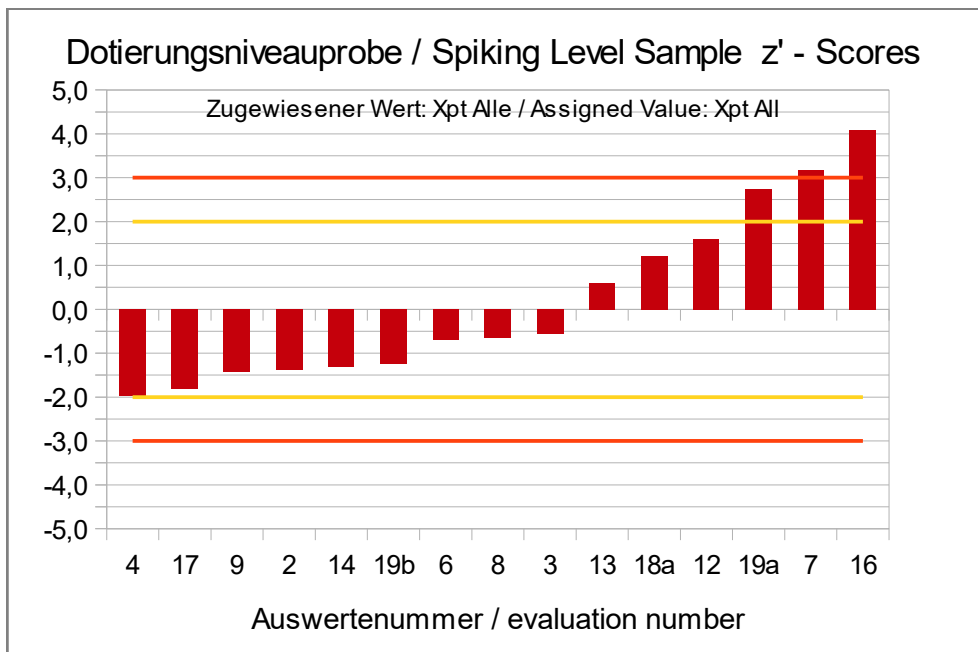


Abb./Fig. 18: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Sojaprotein) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

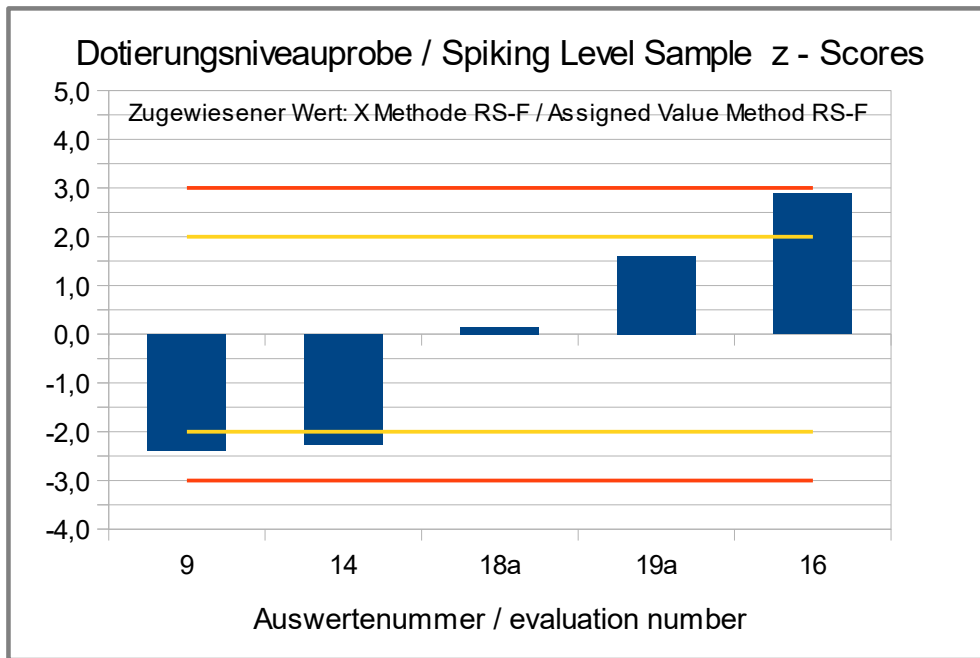


Abb./Fig. 19:

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

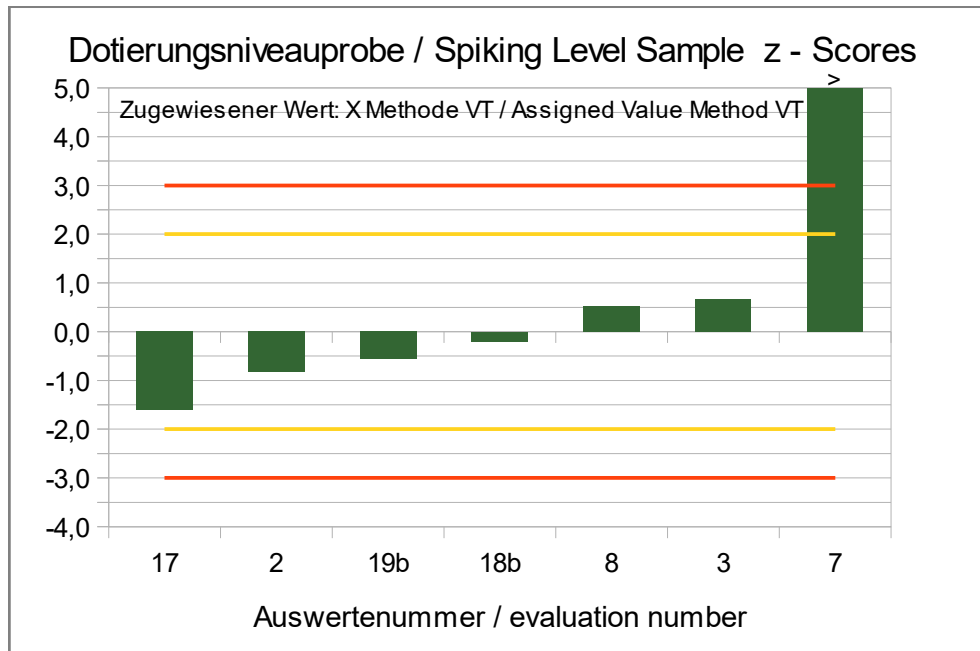


Abb./Fig. 20:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sojaprotein) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

**Wiederfindungsraten ELISA für Sojaprotein:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
4	8,11	34	-2,6	5,45	24	-3,0	BC	Ergebnis umgerechnet °
6	17,0	72	-1,1	21,0	93	-0,28	MI-II	
12	33,0	139	1,57	27,0	119	0,78	MI-II	
1	>20			>20			RS-F	
5	>20			>20			RS-F	
9	11,8	50	-2,0	18,1	80	-0,80	RS-F	
10				17,0	75	-0,99	RS-F	
11							RS-F	
14	12,7	54	-1,9	10,1	45	-2,2	RS-F	
16	50,4	213	4,5	35,7	158	2,3	RS-F	
18a	30,3	128	1,1	31,0	137	1,5	RS-F	
19a	41,0	173	2,9	27,0	119	0,78	RS-F	
13	26,0	110	0,39	11,0	49	-2,1	SP	
21							SP	
2	12,2	51	-1,9	11,8	52	-1,9	VT	Ergebnis umgerechnet °
3	17,9	76	-1,0	16,6	73	-1,1	VT	
7	44,0	186	3,4	31,0	137	1,5	VT	Ergebnisangabe als Sojamehl?
8	17,4	73	-1,1	16,0	71	-1,2	VT	Ergebnis umgerechnet °
17	9,20	39	-2,4	12,0	53	-1,9	VT	Ergebnis umgerechnet °
18b	14,6	62	-1,5	12,1	54	-1,9	VT	Ergebnis umgerechnet °
19b	13,2	56	-1,8	13,6	60	-1,6	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	11	Anzahl im AB	13
Prozent im AB	69	Prozent im AB	76

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

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

Anmerkung:

69% (11) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 76% (13) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Soja

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		
20	negativ		negativ		1/2 (50%)	GR	keine Positivprobe detektiert
22	negativ		negativ		1/2 (50%)	GR	keine Positivprobe detektiert
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
21	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
18	positiv	20,9	negativ	<1	2/2 (100%)	SFA-ID	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-Q	
6	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
19	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	0
Anzahl negativ	2	8
Prozent positiv	75	0
Prozent negativ	25	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A. Zwei Teilnehmer haben negative Ergebnisse für Probe A erhalten (Methode GR).

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Einzelergebnisse vorlagen.

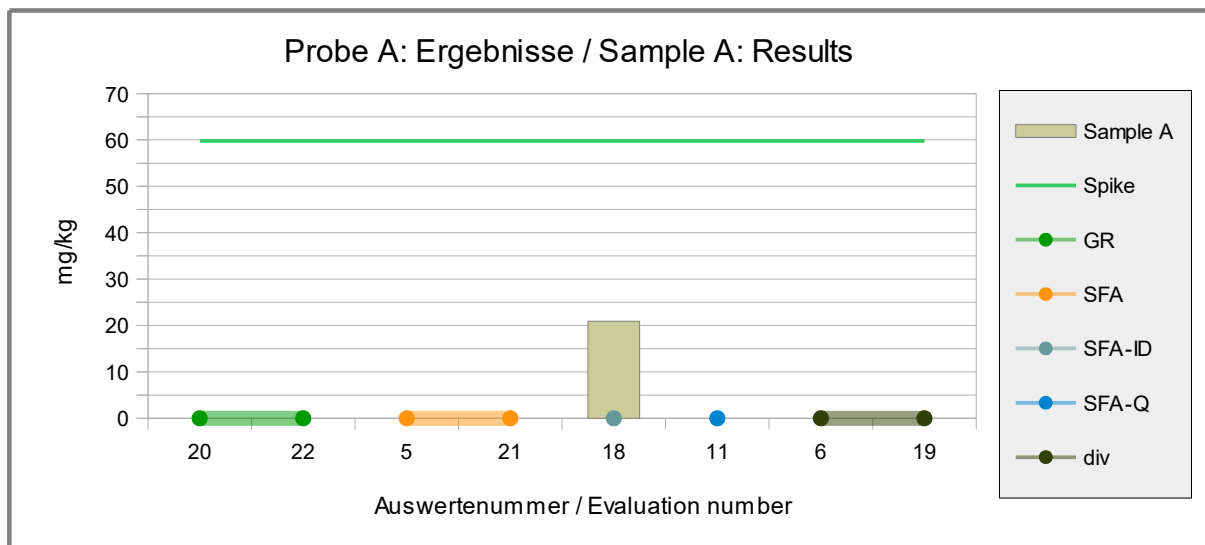


Abb./Fig. 21: PCR-Ergebnisse Soja
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Qualitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Einzelergebnisse vorlagen.

Auswertenummer	Soja	Soja	z-Score	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	X _{pt,ALL}		
20	positiv			GR	
22	positiv			GR	
5	positiv			SFA	
21	positiv			SFA	
18	positiv	34,6		SFA-ID	
11	positiv			SFA-Q	
6	-			div	
19	positiv			div	

	Probe A	
Anzahl positiv	7	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

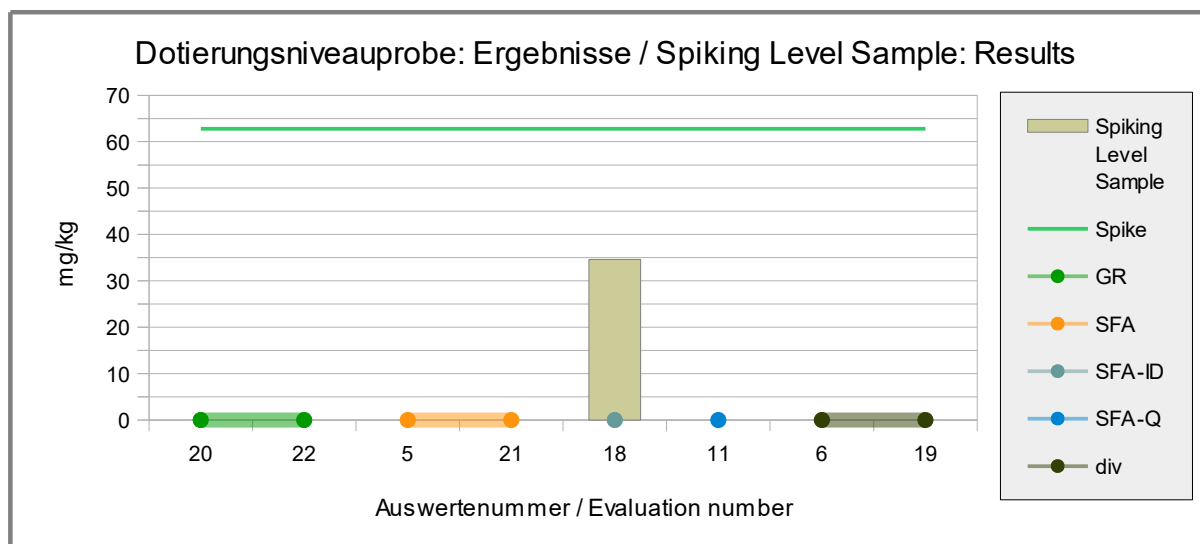


Abb./Fig. 22: PCR-Ergebnisse Soja
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten PCR für Soja:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
20							GR	
22							GR	
5							SFA	
21							SFA	
18	34,6	55	-1,8	20,9	35	-2,6	SFA-ID	
11							SFA-Q	
6							div	
19							div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	100	Prozent im AB	0

Methoden:

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Soja, s. Seite 5
 ** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs
 * Recovery rate 100% relative size: Soya, s. page 5
 ** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAS

Anmerkung:

Ein Teilnehmer hat quantitative PCR-Ergebnisse übermittelt. Für die Dotierungsniveauprobe lag die zugehörige Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150%. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA Casein Xpt (div. Methoden)		ELISA Milchprotein Xpt (div. Methoden)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1				
2	9,2	7,6		
3			1,5	1,3
4	-1,50	-1,35		
5	2,00	2,02		
6	-0,46	-0,72		
11				
12	1,10	0,60		
13	0,58	1,25		
14	-2,3	-0,91	-1,1	-1,6
15	0,76	-0,02		
16	-0,91	-0,62		
17	0,16	-0,89	-0,41	0,50
18			-0,92	-1,1
18a	0,45	0,84		
18b	6,6	7,7		
19			0,88	0,83
20				
21				
22				

Auswertenummer	ELISA Sojaprotein Xpt (div. Methoden)		ELISA Sojaprotein Xpt (Methode: RS-F)		ELISA Sojaprotein Xpt (Methode: VT)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1						
2	-1,44	-1,38			-0,75	-0,82
3	-0,40	-0,57			0,58	0,66
4	-2,8	-1,97				
5						
6	0,56	-0,70				
7	2,7	3,2			4,5	7,5
8	-0,53	-0,64			0,41	0,53
9	-0,07	-1,44	-0,87	-2,4		
10	-0,31		-1,06			
11						
12	1,86	1,59				
13	-1,61	0,59				
14	-1,81	-1,31	-2,3	-2,3		
16	3,8	4,1	2,2	2,9		
17	-1,40	-1,81			-0,69	-1,60
18a	2,7	1,21	1,36	0,15		
18b	-1,38	-1,04			-0,66	-0,20
19a	1,86	2,7	0,66	1,61		
19b	-1,05	-1,24			-0,25	-0,56
21						

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

- 2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)
- 2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)
- 3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

Methoden: RS-F = Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
VT = Veratox, Neogen

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

Auswertenummer	ELISA Casein		ELISA Milchprotein	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1				
2	12	11		
3			0,38	0,42
4	-1,6	-0,68		
5	2,9	3,5		
6	-0,27	0,11		
11				
12	1,8	1,8		
13	1,1	2,6		
14	-2,6	-0,14	-2,3	-3,0
15	1,3	1,0		
16	-0,85	0,24		
17	0,54	-0,11	-1,6	-0,53
18			-2,1	-2,4
18a	0,92	2,1		
18b	9,0	11		
19			-0,30	-0,13
20				
21				
22				

Auswertenummer	ELISA Sojaprotein		PCR Soja	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1				
2	-1,9	-1,9		
3	-1,1	-1,0		
4	-3,0	-2,6		
5				
6	-0,28	-1,1		
7	1,5	3,4		
8	-1,2	-1,1		
9	-0,80	-2,0		
10	-0,99			
11				
12	0,78	1,6		
13	-2,1	0,39		
14	-2,2	-1,9		
16	2,3	4,5		
17	-1,9	-2,4		
18			-2,6	-1,8
18a	1,5	1,1		
18b	-1,9	-1,5		
19a	0,78	2,9		
19b	-1,6	-1,8		
21				

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

-2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)

-2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)

-3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: β -Lactoglobulin

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse Tag/Monat	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
MI-II	6		positiv	0,83	negativ	<0,031	positiv	1,1	0,031	0,031		Beta-Lactoglobulin	Test-Kit + Anbieter Morinaga BLG ELISA Kit II

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
MI-II	6	erkennt β -Lactoglobulin	lt. Herstellerangaben	ja	x 10 = Gesamtmilchprotein

5.1.2 ELISA: Casein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ	4	09.03.21	positiv	7	negativ	<0.2	positiv	12,1	0,2	0,2	50	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
BC	18a	26.02.21	positiv	14,51	negativ	<0.2	positiv	22,14	0,2	0,2	30,39	Casein	BioCheck ELISA Milk-Check (Casein)
ES	1	05.03.21	positiv	>10	negativ	<1	positiv	>10		1		Magermilchpulver	ELISA Systems Casein ESCASPRD-48
IL	16	15.03.21	positiv	9,28	negativ	<2,5	positiv	15,46	0,4	2,5	-	Casein	Immunolab Casein ELISA
MI-II	6		positiv	11	negativ	<0,25	positiv	15	0,25	0,25		Casein	Morinaga Casein ELISA Kit
MI-II	17	31/3	-	16,7	-	<0.31	-	17,7		0,31		Lebensmittel	Selection Casein-Kits: Morinaga
RS-F	5		positiv	20,3	negativ	< 2,5	positiv	27,5		2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	11	25.03.21	positiv		negativ		positiv		0,5	0,5		Bitte auswählen!	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	12	15.04.21	-	17	-	<0,3	-	21	0,3	0,6		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	14	25.02.21	positiv	4,1	negativ	No detectado, <2,5	positiv	14,1		2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	15	14.04.21	positiv	15,7	negativ	<0,12	positiv	18,2	0,12	0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	18b	23.02.21	positiv	38,28	negativ	<2.5	positiv	53,53	2,5	2,5	25,48	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
SP	13	23.03.21	positiv	15	negativ	< 0.2	positiv	24	0.04	0.2		Casein	SensiSpec ELISA Casein, Eurofins
SP	20	08.04.21	positiv		negativ		positiv					Bitte auswählen!	SensiSpec ELISA Casein, Eurofins
SP	21		positiv		negativ		positiv		0,04	0,2	30	Bitte auswählen!	SensiSpec ELISA Casein, Eurofins
SP	22	08. Apr	positiv		negativ		positiv					Bitte auswählen!	SensiSpec ELISA Casein, Eurofins
VT	2	15.03.21	positiv	48	negativ	< 2,5	positiv	53		2,5		Casein	Veratox Casein Allergen, Neogen

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

Fortsetzung ELISA Casein:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	4		0.5g Einw aage/10ml Kit-Extraktionspuffer /15 min bei 60°C	ja	
BC	18a	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
ES	1	Casein - alfa-S1		nein	
IL	16			nein	
MI-II	6	erkennt Casein	lt. Herstellerangaben	ja	x 1,24 = Gesamtmilchprotein
MI-II	17				
RS-F	5			ja	
RS-F	11			ja	
RS-F	12			ja	
RS-F	14			nein	
RS-F	15			nein	
RS-F	18b	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
SP	13				
SP	20			nein	
SP	21				
SP	22			nein	
VT	2		1g in 125 mL PBS (aus Test-Kit) / 15 min / 60°C	ja	

5.1.3 ELISA: Milchprotein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ	18	26.02.21	positiv	6,88	negativ	<0.4	positiv	7,48	0,4	0,4	30	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs
RS-F	14	25.02.21	positiv	6,2	negativ	<2,5	positiv	4,7		2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
SP	6		-		-		-					Milchproteine, gesamt	SensiSpec ELISA Milk, Eurofins
SP	21		positiv		negativ		positiv		0,05	0,4	30	Bitte auswählen!	SensiSpec ELISA Milk, Eurofins
VT	3	09.03.21	-	16,2	-	n.n.	-	20,1	0,4	0,9	40	Milchproteine, gesamt	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	17	16/4	-	25,1	-	<2.5	-	44,9		2,5		Lebensmittel	Selection Milk-Kits: Neogen
VT	19	21.04.2021, 23.04.2021	positiv	39	negativ	<2.5	positiv	50	2,5	2,5		Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	18	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	Ja	
RS-F	14			Ja	0,9 mg/kg für Probe A, nicht detektiert (<0,4) für Probe B und 3,1 für Dotierungsniveauprobe mit PE-I9014
SP	6				
SP	21				
VT	3			Ja	
VT	17				
VT	19			ja	

5.1.4 ELISA: Soja

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
BC	4	09.03.21	positiv	0,3458	negativ	<0,05	positiv	0,5147	0,05	0,05	50	Sojatrypsinkinhibitor	BioCheck ELISA Soya-Check
MI-II	6		positiv	21	negativ	<1,25	positiv	17	1,25	1,25		Sojaprotein	Morinaga Sojaprotein ELISA Kit II
MI-II	12	14.04.21	-	27	-	<0,3	-	33	0,3	1,25		Sojaprotein	Morinaga Soya ELISA Kit II
RS-F	1	03.03.21	positiv	>20	negativ	<2,5	positiv	>20		2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	5		positiv	> 20	negativ	< 2,5	positiv	> 20		2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	9		positiv	18,10	negativ	<2,5	positiv	11,82		2,5		Sojaprotein	r7102
RS-F	10	06.04.	positiv	17	negativ	<2,5	-		0,24	2,5	63,1	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	11	03.03.21	positiv		negativ		positiv		2,5	2,5		Bitte auswählen!	andere: bitte eingeben!
RS-F	14	25.02.21	positiv	10,1	negativ	<2,5	positiv	12,7		2,5		Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	16	17.03.21	positiv	35,73	negativ	<2,5	positiv	50,39	0,24	2,5	23,1	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	18a	04.03.21	positiv	31,03	negativ	<2,5	positiv	30,33	2,5	2,5	24,54	Sojaprotein	Ridascreen® FAST Soya R7102, R-Biopharm
RS-F	19a	03.05.21	positiv	27	negativ	<2,5	positiv	41	2,5	2,5		Sojaprotein	RIDASCREEN FAST Soya, r-Biopharm
SP	13	23.03.21	positiv	11	negativ	<2	positiv	26	0,2	2		Sojaprotein	SENSISpec Total Soy Protein
SP	21		positiv		negativ		positiv		0,016	0,04	30	Please select!	SensiSpec ELISA Soy, Eurofins
VT	2	15.03.21	positiv	25	negativ	< 2,5	positiv	26		2,5		Sojamehl	Veratox Soy Allergen, Neogen
VT	3	09.03.21	-	16,6	-	n.n.	-	17,9	0,5	1,3	40	Sojaprotein	Veratox Soja Allergen Neogen
VT	7		positiv	31	negativ	0	positiv	44				Sojaprotein	andere: NEOGEN Veratox Soy Allergen!
VT	8	24.03.21	positiv	34	negativ	0,35	positiv	37	0,96	2,5		Sojamehl	Verotox Soy Allergen, Neogen 8410
VT	17	16/4	-	25,5	-	<2,5	-	19,6S		2,5		Lebensmittel	Selection Soy-Kits: Neogen
VT	18b	26.02.21	positiv	25,75	negativ	<2,5	positiv	31	2,5	2,5	20,23	Sojamehl	Veratox Soy Allergen, Neogen
VT	19b	23.04.21	positiv	29	negativ	<2,5	positiv	28	2,5	2,5		Sojamehl	Veratox Soy Allergen, Neogen

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

Fortsetzung ELISA Soja:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
BC	4		0.5g Einw aage/10ml Kit-Extraktionspuffer bei 60°C/15 min	ja	
MI-II	6		lt. Herstellerangaben	ja	
MI-II	12			ja	
RS-F	1	Sojaprotein		ja	
RS-F	5			ja	
RS-F	9				
RS-F	10			ja	
RS-F	11			ja	Ridascreen FAST Soya R7102
RS-F	14			ja	
RS-F	16			nein	
RS-F	18a	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	19a		Nachweis von Soja auch nach Prozessierung	ja	Probe A+B: Protokoll für Gewürze
SP	13				
SP	21				
VT	2		2g in 125 mL PBS (aus Test-Kit) / 15 min / 60°C	ja	
VT	3			Nein	
VT	7	Soja Protein ELISA	15 min / 60°C		
VT	8		Extraktionslösung (10 mM PBS, pH 7,4) / 60°C / 15 min		Einzelergbnis Probe A: 35,0 mg/kg, 33,0 mg/kg Einzelergbnis Probe B: 0,5 mg/kg, 0,2 mg/kg Einzelergbnis Dotierungsprobe: 37 mg/kg, 37 mg/kg
VT	17				
VT	18b	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
VT	19b		Nachweis von Sojamehl, nicht prozessiert	ja	Nachweis von Sojamehl, nicht prozessiert

5.1.5 PCR: Milch

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
div	19	04.05.21	positiv		negativ		positiv					DNA-Rind	Test-Kit + Anbieter

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
div	19			ja	

5.1.6 PCR: Soja

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
GR	20		negativ		negativ		positiv					Bitte auswählen!	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
GR	22		negativ		negativ		positiv					Bitte auswählen!	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
SFA	5		positiv		negativ		positiv		0,4			Soja-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	21		positiv		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	18	09.03.21	positiv	20,92	negativ	<1	positiv	34,61	1	1	23,73	Sojabohnen	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-Q	11	25.02.21	positiv		negativ		positiv		<0,4			Bitte auswählen!	Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen
div	6		positiv		negativ		-		5			Soja-DNA	interne Method
div	19	29.04.21	positiv		negativ		positiv					Soja-DNA	Auswahl PCR-Methoden

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
GR	20			nein	
GR	22			nein	
SFA	5			ja	
SFA	21				
SFA-ID	18	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
SFA-Q	11			ja	
div	6		CTAB / Proteinase K / RNase A / Promega Maxwell / Realtime PCR / 45 Zyklen	ja	
div	19	Lectin-Gen		ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL01 Probe A

Gewicht Gesamtprobe	2,41	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,3	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	61	24,4
2	5,00	66	26,4
3	5,02	64	25,5
4	5,02	56	22,3
5	5,03	56	22,3
6	5,01	50	20,0
7	5,02	57	22,7
8	5,03	62	24,7

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	59,0	Partikel
Standardabweichung	5,25	Partikel
χ ² (CHI-Quadrat)	3,27	
Wahrscheinlichkeit	86	%
Wiederfindungsrate	105	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	23,5	mg/kg
Standardabweichung	2,09	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,89	%
Horwitz Standardabweichung	9,95	%
HorRat-Wert	0,89	
Wiederfindungsrate	105	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL01 Dotierungsnivouprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,50	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	29,0	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,02	71	28,3
2	5,02	70	27,9
3	5,04	69	27,4
4	5,04	67	26,6
5	5,01	61	24,4
6	5,01	58	23,2
7	4,97	60	24,1
8	4,98	69	27,7

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	65,6	Partikel
Standardabweichung	5,01	Partikel
χ ² (CHI-Quadrat)	2,67	
Wahrscheinlichkeit	91	%
Wiederfindungsrate	90	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	26,2	mg/kg
Standardabweichung	2,00	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,63	%
Horwitz Standardabweichung	9,79	%
HorRat-Wert	0,78	
Wiederfindungsrate	90	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL01 - 2021
EP-Name	Allergene I: Milch (Casein) und Soja in Saucenpulver mit „Dotierungsniveauprobe“
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Saucenpulver / Zutaten: Stärke (Kartoffel), Salz, Gemüse* (Zwiebeln*, Karotten*, Lauch*, Pastinaken*, Kartoffeln, Sellerie, Knoblauch*, Petersilie), Maisstärke*, Roh-Rohrzucker*, Kräuter*, Gewürze*, Sonnenblumenöl*, Geschmacksverstärker (Natriumglutamat, Dinatriuminosinat), Trennmittel: Siliciumdioxid; natürliches Bockshornklee-Aroma, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Magermilchpulver (Milchprotein, Casein, DNA), Sojamehl (Sojaprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	<u>spätestens 16. April 2021</u>
Auswertebericht	Der Auswertebericht 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. Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		GROSSBRITANNIEN
		SPANIEN
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		SPANIEN
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		SCHWEIZ
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		SPANIEN
		Deutschland
		Deutschland
		CANADA
		ITALIEN
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		ITALIEN
		SPANIEN

[Die Adressdaten der Teilnehmer wurden für die allgemeine Veröffentlichung des Auswertebereichs nicht angegeben.]

[The address data of the participants were deleted for publication of the evaluation report.]

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. Codex Alimentarius Commission (2010) - Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
19. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by immunological methods - Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 1: General considerations
21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen - Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for

- Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices
JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
 25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
 30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
 31. ASU §64 LFGB L 00.00-169 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Erdnuss in Lebensmitteln mittels real-time PCR (2019) [Foodstuffs, detection and determination of peanut in foods by real-time PCR]
 32. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
 33. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, determination of soya (Glycine max) in cereal flour by real-time PCR]
 34. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
 35. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
 36. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (Bos domesticus), Besler M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, <http://www.food-allergens.de>
 37. Allergen Data Collection - Update (2002): Soybean (Glycine max), Besler M., Helm R.M., Ogawa T., Internet Symposium on Food Allergens 2(Suppl.3): 1-35 (2000) <http://www.food-allergens.de>

DLA ptAL01 (2021) - Allergene I

Alle 21 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Milch (Milchprotein, Casein) und Soja (Sojaprotein) für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und PCR-Methoden (Soja, qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe

ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebericht zu entnehmen. 14 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Italien, Schweiz, Spanien) sowie ein Teilnehmer in Kanada.