



Auswertungs-Berich

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL03 (2021)

Allergene III:

β -Lactoglobulin, Casein und Gluten

**in hypoallergener Anfangsnahrung mit
hydrolysiertem Milchprotein**

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

1. Korrektur 27.09.2021:

In der Übersichtstabelle der z-Scores (S. 59) wurden für die Teilnehmer 7 und 9 die z-Scores für beta-Lactoglobulin in der Dotierungsniveauprobe nicht oder falsch aus dem Ergebnisteil übertragen. Dies wurde korrigiert.

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 ptAL03 (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 (24. September 2021) 1. Korrektur / 1st Correction 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: 24. September 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.....	7
2.1.2 Stabilität.....	10
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	10
2.3 Ergebnisübermittlung.....	10
3. Auswertung.....	11
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	11
3.2 Robuste Standardabweichung.....	12
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	12
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	13
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	13
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	13
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	16
3.5 z-Score.....	17
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	17
3.6 z'-Score.....	18
3.7 Quotient S^*/opt	18
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	18
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	19
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	19
4. Ergebnisse.....	20
4.1 Vergleichsuntersuchung Milch.....	22
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: β -Lactoglobulin.....	22
4.1.2 ELISA-Ergebnisse: Casein.....	33
4.1.3 ELISA-Ergebnisse: Milch (als Gesamt-Milchprotein).....	43
4.2 Vergleichsuntersuchung Weizen (Gluten).....	48
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	48
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Gluten-haltige Getreide (Weizen).....	58
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	59
5. Dokumentation.....	62
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	62
5.1.1 ELISA: β -Lactoglobulin.....	62
5.1.2 ELISA: Casein.....	64
5.1.3 ELISA: Milch.....	65
5.1.4 ELISA: Gluten.....	66
5.1.5 PCR: Glutenhaltige Getreide.....	68
5.2 Homogenität.....	69
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	69
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	70
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	71
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	72

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 eine Mischung handelsüblicher Säuglingsanfangsnahrungen mit Sojaprotein und hydrolysiertem Molkenprotein (Pulver zur Zubereitung) für besondere medizinische Zwecke (bilanzierte Diäten) u.a. bei Kuhmilchallergie mit einem weiteren Zusatz von Casein-Hydrolysat. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach dem Homogenisieren der Grundmischung wurde die **dotierte Probe B** folgendermaßen hergestellt:

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Magermilchpulver, Molkenpulver und Weizenmehl enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle zerkleinert und gesiebt (mesh <250 µm bzw. <500 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
Kinder-Anfangsnahrung mit Sojaprotein, bei Unverträglichkeit oder Allergie gegen Milch, von Geburt an (Pulver zur Zubereitung, bilanzierte Diät) Zutaten: Maltodextrin, Pflanzenöle, Sojaproteinisolat, Vitamine, Mineralstoffe und weitere Lebensmittelzusatzstoffe Nährwertangaben pro 100 g Pulver: Fett 23 g, Kohlenhydrate 58 g, Eiweiß 11 g, Salz 0,5 g	57,2 g/100g	57,1 g/100g	-
Kinder-Anfangsnahrung mit hydrolysiertem Molkenprotein, bei Allergie gegen Milch, von Geburt an (Pulver zur Zubereitung, bilanzierte Diät) Zutaten: Glucosesirup, hydrolysiertes Molkenprotein, Pflanzenöle, Maltodextrin, Fischöl, Vitamine, Mineralstoffe und weitere Lebensmittelzusatzstoffe Nährwertangaben pro 100 g Pulver: Fett 25 g, Kohlenhydrate 54 g, Eiweiß 13 g, Salz 0,4 g	38,0 g/100g	37,9 g/100g	-
Casein-Hydrolysat (Getränke-Pulver) Zutaten: Casein-Hydrolysat Nährwertangaben pro 100 g Pulver: Fett 1,5 g, Kohlenhydrate 0 g, Eiweiß 81 g, Salz 3,8 g	4,7 g/100g	4,7 g/100g	-
<i>davon Milchproteinhydrolysate</i> - hydrolysierte Molkenproteine - hydrolysierte Caseine	5,1 g/100g 3,8 g/100g	5,1 g/100g 3,8 g/100g	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,8 g/100 g
<i>Milch-Anteil 1:</i> Magermilchpulver-Mischung (9 Produkte aus Europa, USA) - als Magermilchpulver* - davon 33,0% Gesamtprotein** - davon Casein*** - davon β -Lactoglobulin***	-	58,8 mg/kg 19,4 mg/kg 15,5 mg/kg 1,94 mg/kg	58,3 mg/kg 19,2 mg/kg 15,4 mg/kg 1,92 mg/kg
<i>Milch-Anteil 2:</i> Molkenpulver-Mischung (4 Produkte aus Deutschland) - als Molkenpulver* - davon 15,9% Gesamtprotein** - davon β -Lactoglobulin***	-	260 mg/kg 41,4 mg/kg 20,7 mg/kg	359 mg/kg 57,0 mg/kg 28,5 mg/kg
<i>Summen der Milchanteile</i> - davon Gesamtprotein - davon Casein - davon β -Lactoglobulin	-	319 mg/kg 60,8 mg/kg 15,5 mg/kg 22,6 mg/kg	417 mg/kg 76,2 mg/kg 15,4 mg/kg 30,4 mg/kg
<i>Weizen:</i> Weizenmehl-Mischung (21 Produkte aus Europa, Asien, USA) - als Weizenmehl* - davon 10,1% Gesamtprotein** - davon Gluten***	-	173 mg/kg 17,5 mg/kg 15,1 mg/kg	169 mg/kg 17,1 mg/kg 14,7 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i>	-	<0,2 g/100 g	<0,2 g/100 g

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
<i>Maltodextrin und Siliciumdioxid</i>			

Fußnoten siehe nächste Seite

*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 $F=5,7$ für Weizenprotein)

*** Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10% β -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [31]; ca. 50% β -Lactoglobulin in Molkenprotein [36]; ca. 8,7% Gluten in Weizenmehlen [37, 38])

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 B und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 84% bzw. 48% 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 1,0 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 1,0 bzw. 1,3 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

Durchführung der Homogenitätstests

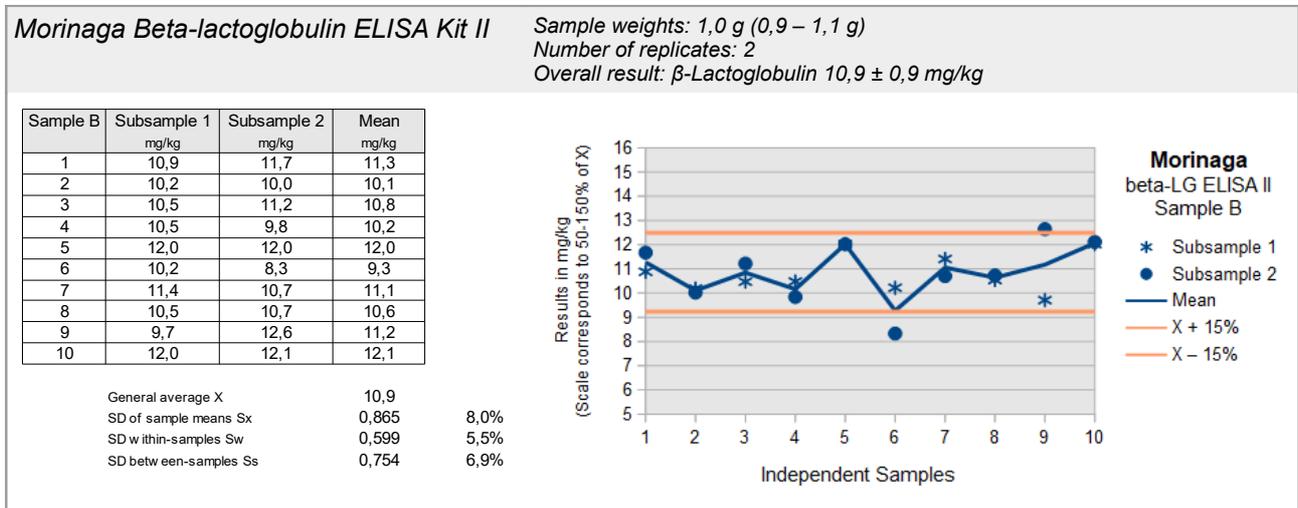
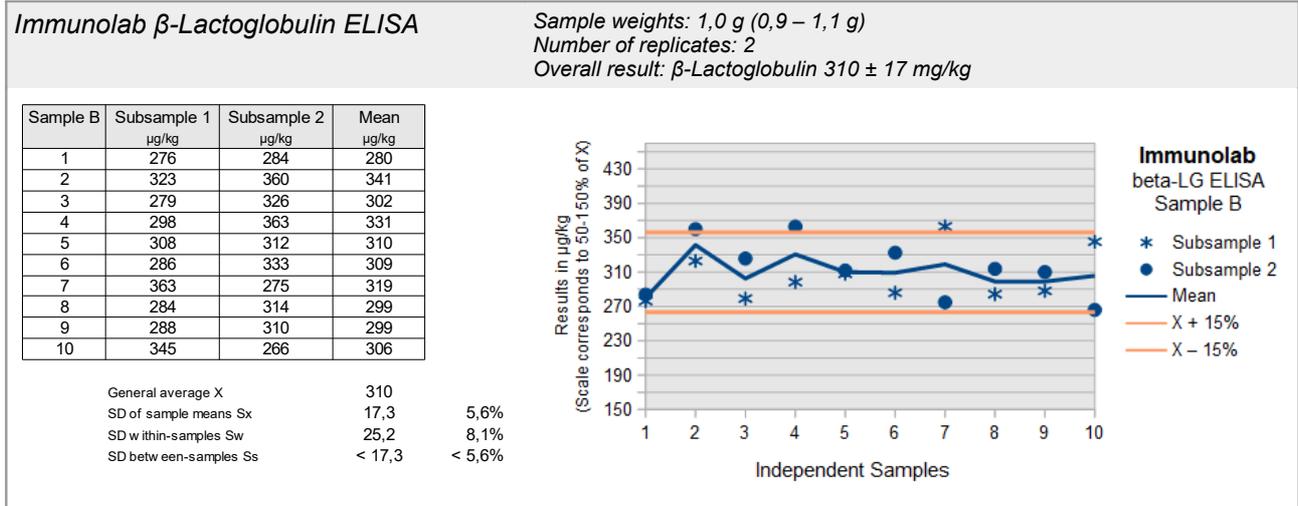
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur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

Bewertung der Homogenität

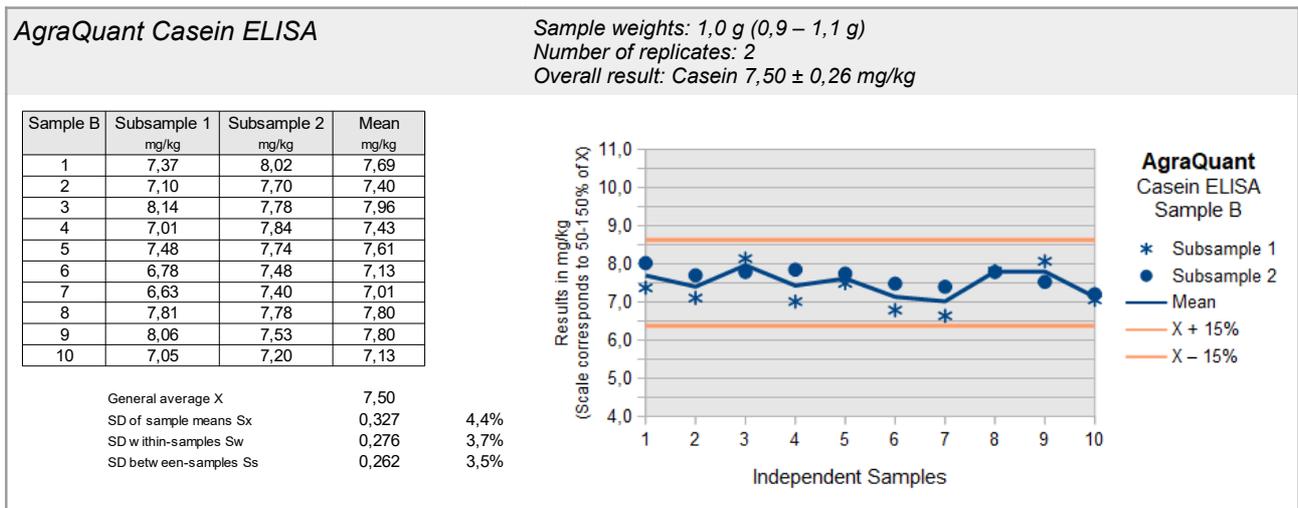
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $S_s \leq 15\%$ („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests sowohl β -Lactoglobulin und Casein (Immunolab, Morinaga und AgraQuant) sowie Gluten/Gliadin (Immunolab, Morinaga und AgraQuant) erfüllt 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].

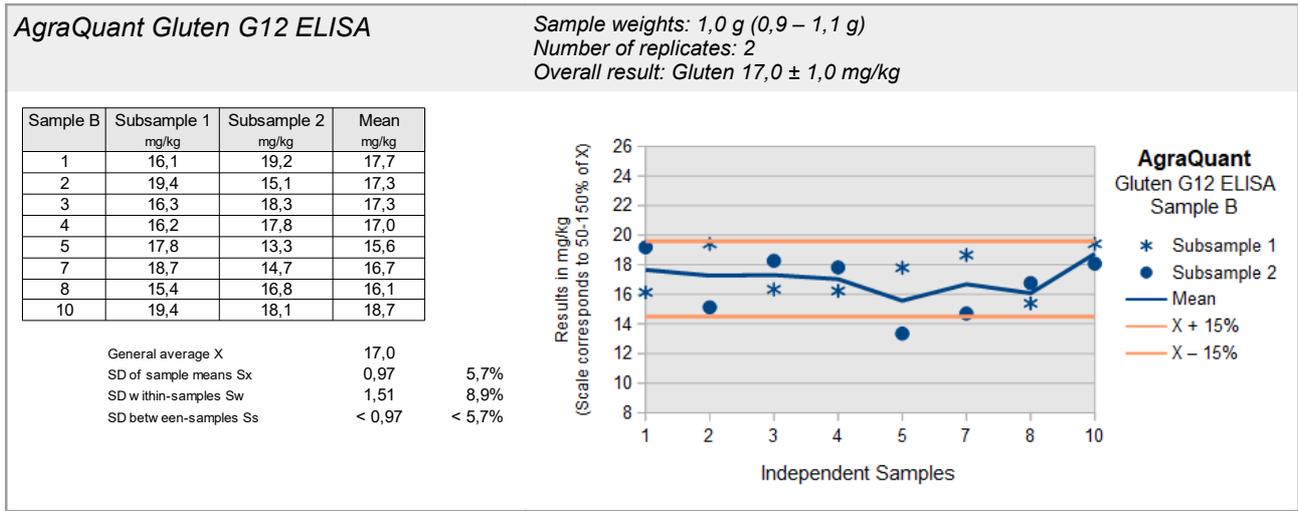
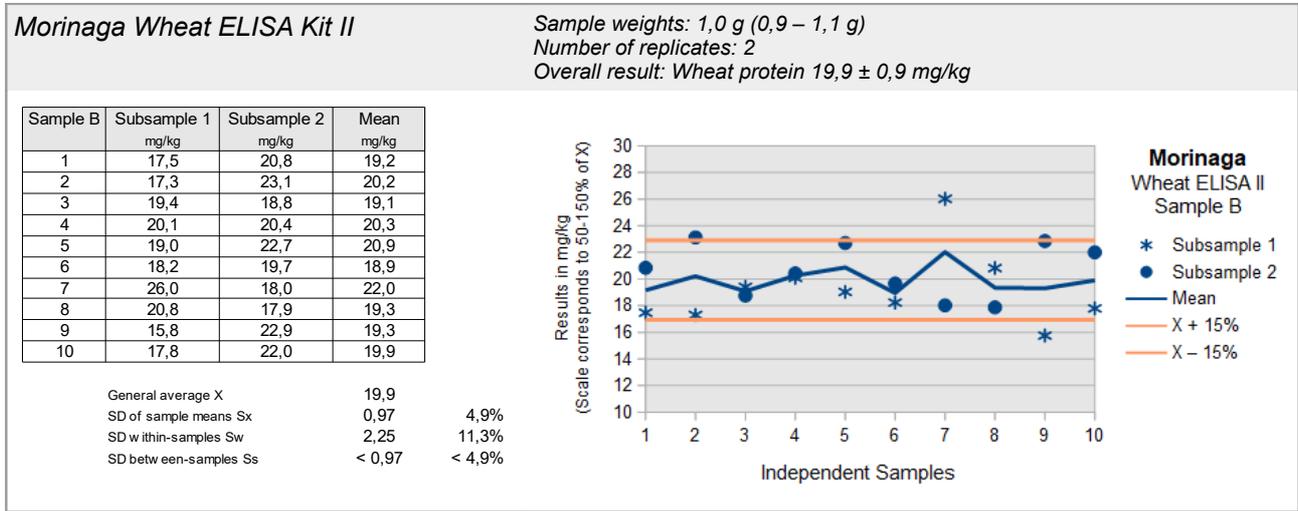
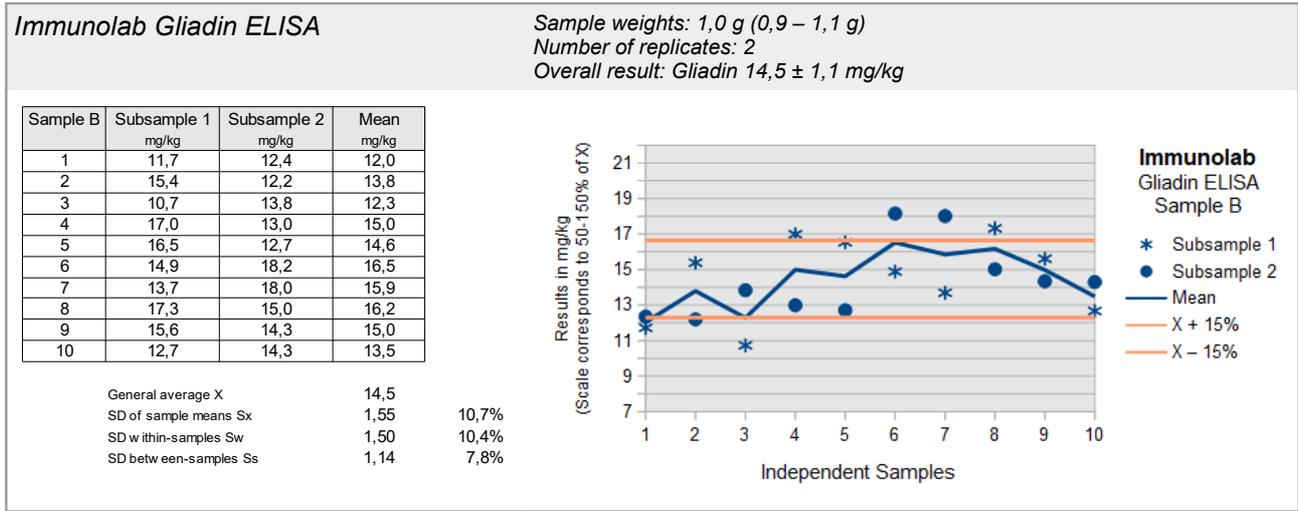
ELISA-Tests: Homogenität β -Lactoglobulin / Homogeneity β -Lactoglobulin



ELISA-Tests: Homogenität Casein / Homogeneity Casein



ELISA-Tests: Homogenität Gluten (Weizen) / Homogeneity Gluten (Wheat)



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 Degradationsrate 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. $0,14$ ($20,7^\circ\text{C}$) für die Lebensmittelmatrix-Proben bzw. $0,29$ ($18,9^\circ$) für die Dotierungsniveauprobe. 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 17. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 25. Juni 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 **β -Lactoglobulin**, **Casein** und **Gluten** im mg/kg Bereich in der Matrix hypoallergene Anfangsnahrung mit hydrolysiertem Milchprotein. 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.

Von 21 Teilnehmern haben 20 Teilnehmer mindestens ein Ergebnis abgegeben.
Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse eingereicht.

3. Auswertung

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

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

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

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

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

berücksichtigt [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

- i) **Robuste Standardabweichung aller Ergebnisse** – S^*_{ALL}
- ii) **Robuste Standardabweichung von 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
$\sigma_R = 0,22c$	$c < 1,2 \times 10^{-7}$	$< 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,02c^{0,8495}$	$1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138$	$\geq 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,01c^{0,5}$	$c > 0,138$	$> 13,8 \text{ g/100g}$

mit c = Massenanteil des Analyten (als relative Größe, z.B. 1 mg/kg = 1 ppm = 10^{-6} kg/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_r	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	Wiederholstandardabweichung	Vergleichsstandardabweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2% ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

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

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

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

3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

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

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

3.6 z'-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S^*/σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

Die Rückführbarkeit des zugewiesenen Wertes wird anhand des Konsenswertes

als robuster Mittelwert der Teilnehmerergebnisse gewährleistet.

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

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

4. Ergebnisse

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

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

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

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

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

β -Lactoglobulin-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Gesamt-Milchprotein** angegeben wurden, sind mit Literaturangaben [36] in den **β -Lactoglobulin**-gehalt (ca. 10 % in Gesamt-Milchprotein, vgl. S.5) umgerechnet worden (Morinaga ELISA Kit II).

Casein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Gesamt-Milchprotein** angegeben wurden, sind mit Literaturangaben [36] auf den **Caseingehalt** (ca. 80 % in Gesamt-Milchprotein, vgl. S.5) umgerechnet worden (Morinaga ELISA Kit II).

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%).

Milchprotein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Summe von Casein und β -Lactoglobulin** angegeben wurden (SensiSpec ELISA), sind nicht umgerechnet worden, sondern mit dem Gesamt-Milchprotein gleichgesetzt worden.

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

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

Gegebenenfalls werden anschließend die Ergebnisse aller Methoden und von

Einzelmethoden mit mindestens 5 quantitativen Ergebnissen statistisch ausgewertet.

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

Auswertenummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{Mi}}$	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°:		
Zielstandardabweichung σ_{pt} bzw. σ_{pt}'		
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}'$)°		
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}'$)°		
Quotient S^*/σ_{pt} bzw. S^*/σ_{pt}'		
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

° 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: β -Lactoglobulin

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]			
8	positiv	1,41	positiv	5,52	1/1 (100%)	AQ	
10	negativ	<0,01	positiv	0,34	1/1 (100%)	AQ	
11	-		positiv	0,35	1/1 (100%)	AQ	
16	positiv	0,80	positiv	7,70	1/1 (100%)	IN	
4	positiv	3,75	positiv	13,3	1/1 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	positiv	0,86	positiv	11,0	1/1 (100%)	MI-II	
7	positiv	7,30	positiv	33,5	1/1 (100%)	RS-C	
12	negativ	<5	positiv	26,7	1/1 (100%)	RS-C	
19	-		positiv	29,0	1/1 (100%)	RS-C	
2	positiv	0,57	positiv	3,64	1/1 (100%)	RS-F	
13	positiv	0,35	positiv	12,2	1/1 (100%)	RS-F	
14	negativ	< 0,167	positiv	14,3	1/1 (100%)	RS-F	
15	negativ	< 0,5	positiv	14,0	1/1 (100%)	RS-F	
18	positiv	0,58	positiv	12,1	1/1 (100%)	RS-F	

° Umrechnung S. 20

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	8	14
Anzahl negativ	4	0
Prozent positiv	67	100
Prozent negativ	33	0
Konsenswert	keiner	positiv

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- IN = Ingezim, Ingenasa
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm
- RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

Der Konsenswert für Probe B steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Für Probe A wurde kein Konsenswert von $\geq 75\%$ positiven oder negativen Ergebnissen erhalten. Die Probenmatrix enthält hydrolysierte Milchproteine, die wahrscheinlich Ursache für die positiven ELISA-Ergebnisse sind.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Aufgrund der Heterogenität der Ergebnisse, auch bei Verwendung gleicher ELISA-Methoden, und der geringen Anzahl von Ergebnissen gleicher Testkits wurde keine quantitative Auswertung der Ergebnisse vorgenommen.

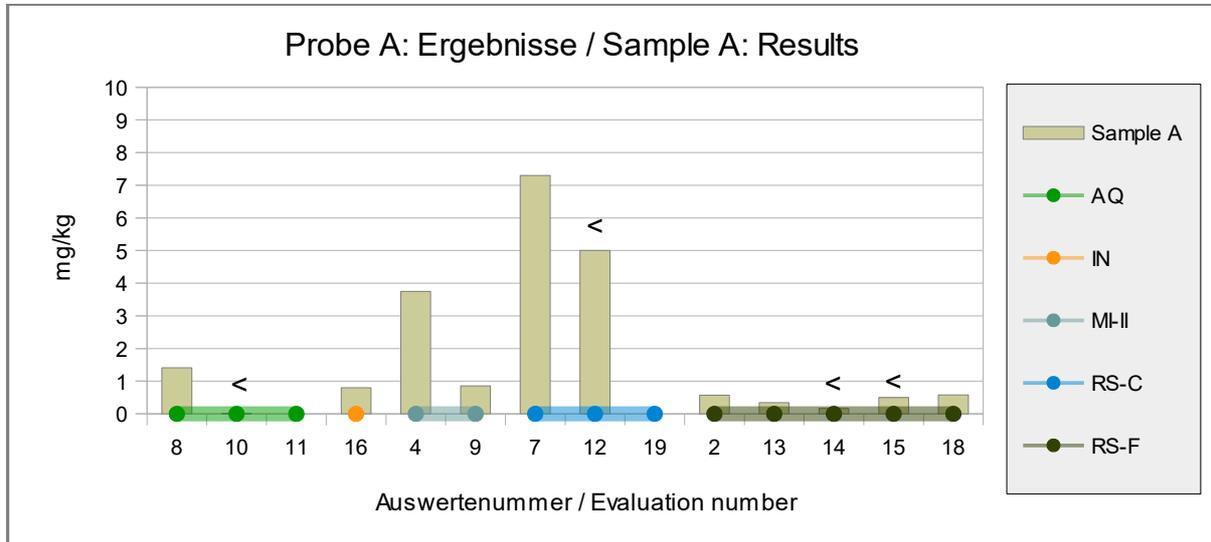


Abb./Fig. 1: ELISA-Ergebnisse β -Lactoglobulin
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	β -Lactoglobulin [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{PEAK\ 11}}$	z-Score $X_{pt_{RS-F}}$	Methode	Hinweis
8	5,52			AQ	
10	0,34			AQ	
11	0,35			AQ	
16	7,70	-1,3		IN	
4	13,3	0,66		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	11,0	-0,14		MI-II	
7	33,5			RS-C	
12	26,7			RS-C	
19	29,0			RS-C	
2	3,64	-2,7	-2,8	RS-F	
13	12,2	0,28	0,08	RS-F	
14	14,3	1,0	0,78	RS-F	
15	14,0	0,92	0,68	RS-F	
18	12,1	0,25	0,05	RS-F	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

IN = INgezim, Ingenasa

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

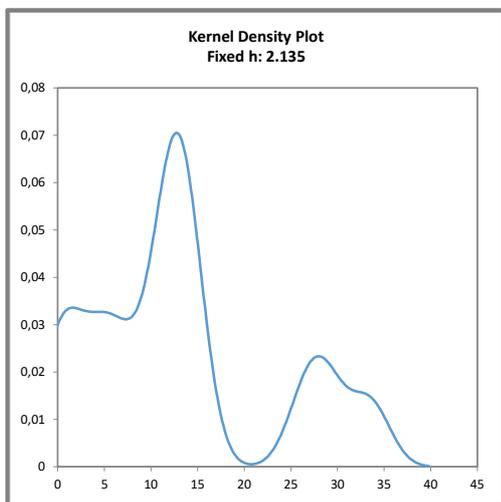


Abb. / Fig. 2:

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 für den Hauptpeak („Peak 11“). Die Ergebnisse unterhalb und oberhalb des zentralen Peaks sind den Methoden AQ (< 7 mg/kg) und RS-C (> 20 mg/kg) zuzuordnen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA β -Lactoglobulin**Probe B**

Kenndaten	Meth. "Peak 11" [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt}_{PEAK\ 11}$	X_{pt}_{RS-F}
Anzahl der Messergebnisse	8	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	11,0	11,3
Median	12,2	12,2
Robuster Mittelwert (X_{pt})	11,4	12,0
Robuste Standardabweichung (S^*)	3,25	3,23
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	2,85	2,99
Untere Grenze des Zielbereichs	5,69	5,98
Obere Grenze des Zielbereichs	17,1	17,9
Quotient S^*/σ_{pt}	1,1	1,1
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,43	1,81
Ergebnisse im Zielbereich	7	4
Prozent im Zielbereich	88	80

Methoden:

PEAK 11 = INgezim (Ingenasa), ELISA Kit II (Morinaga Inst.), Ridascreen® Fast (R-Biopharm)

RS-F = Ridascreen® Fast (R-Biopharm)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine methodenabhängige Verteilung der Ergebnisse, sodass keine Auswertung über alle Methoden vorgenommen wurde. Gemeinsam ausgewertet wurden Ergebnisse der Methoden von „Peak 11“ (siehe Abb. 2).

Die Auswertungen der Ergebnisse von „Peak 11“ und von Methode RS-F zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen deutlich unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 50% ($X_{Peak\ 11}$) bzw. 53% (X_{RS-F}) vom Zusatzniveau von β -Lactoglobulin zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden, wobei zu berücksichtigen ist, dass in der Matrix-Probe A teilweise ebenfalls geringe Gehalte nachgewiesen wurden (s. 3.4.3 und S.32 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für β -Lactoglobulin").

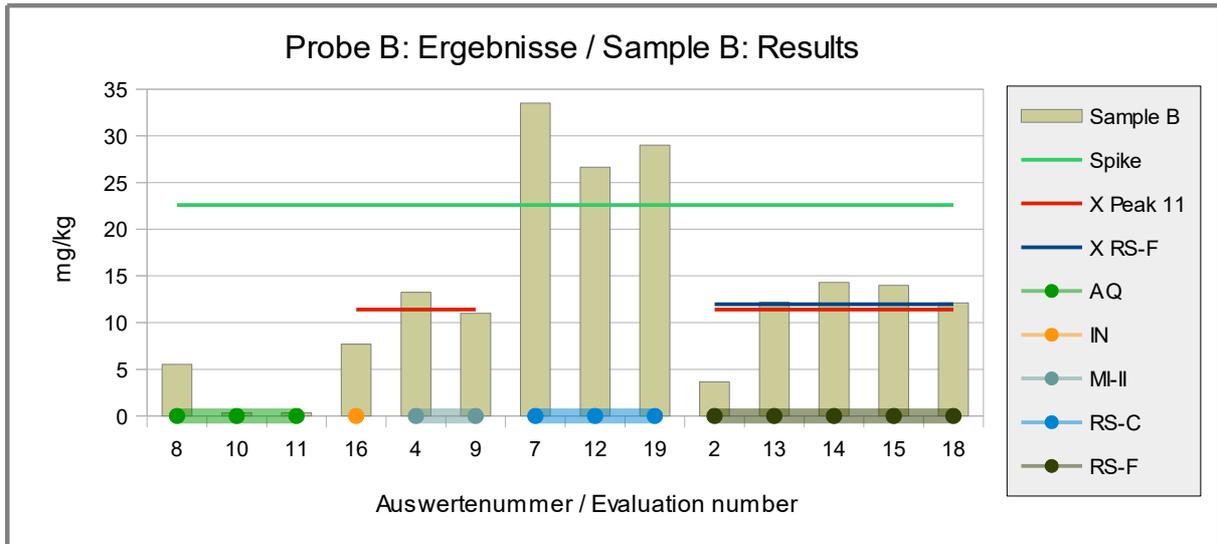


Abb./Fig. 3: ELISA-Ergebnisse β -Lactoglobulin
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse „Peak 11“
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

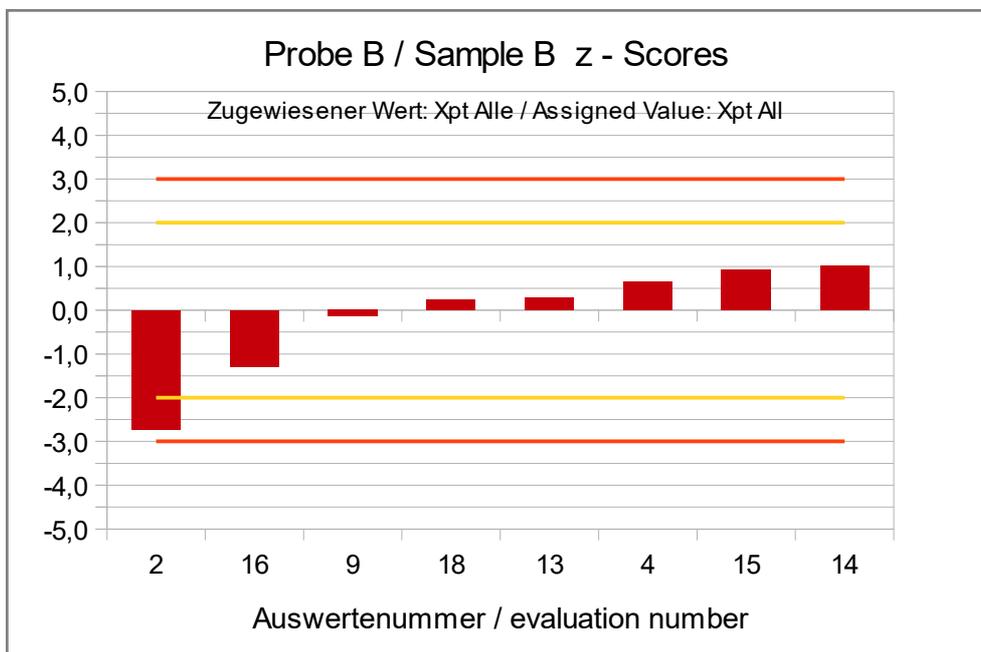


Abb./Fig. 4:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als β -Lactoglobulin
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 11“

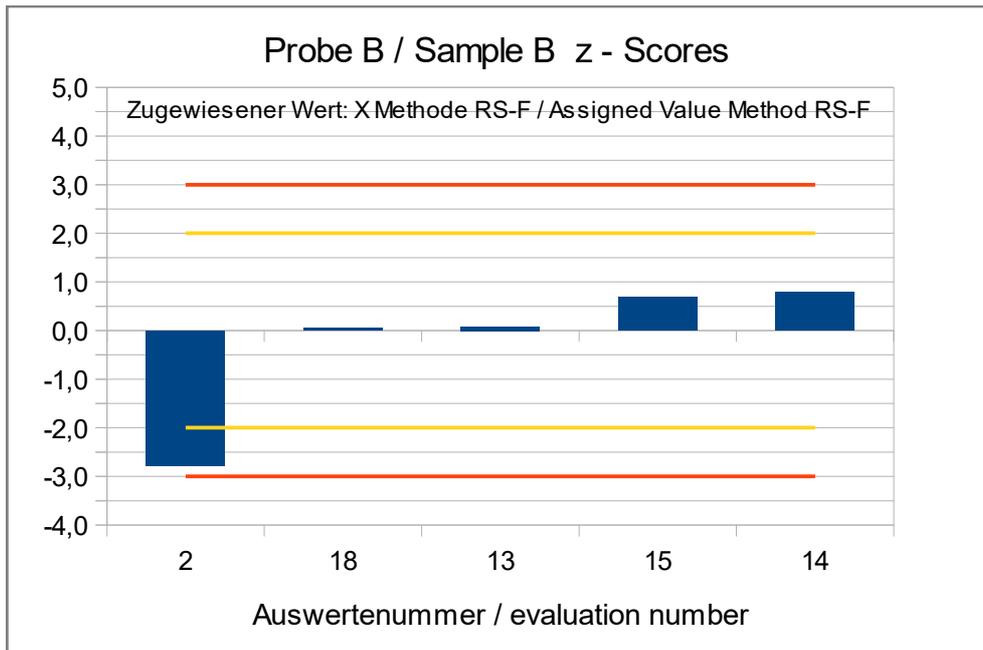


Abb./Fig. 5:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	β -Lactoglobulin [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	z-Score $X_{pt,RS-F}$	Methode	Hinweis
8	9,22	-1,5		AQ	
10	3,95	-2,9		AQ	
11	> 0,4			AQ	
16	15,8	0,33		IN	
4	17,0	0,65		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	14,0	-0,17		MI-II	
7	13,6	-0,28		RS-C	
12	10,1	-1,2		RS-C	
19	12,0	-0,71		RS-C	
2	15,9	0,35	-0,47	RS-F	
13	16,6	0,55	-0,32	RS-F	
14	18,0	0,93	-0,01	RS-F	
15	21,0	1,8	0,66	RS-F	
18	18,7	1,1	0,15	RS-F	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- IN = Ingezim, Ingenasa
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm
- RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

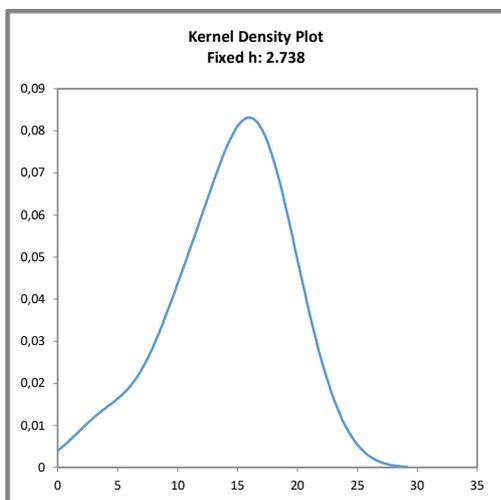


Abb. / Fig. 6:

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 eine annähernd symmetrische Verteilung mit einer leichten Schulter < 7 mg/kg.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA β -Lactoglobulin**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	13	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	14,3	18,0
Median	15,8	18,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	14,6	18,0
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,43	2,26
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	3,65	4,51
Untere Grenze des Zielbereichs	7,30	9,02
Obere Grenze des Zielbereichs	21,9	27,1
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	0,50
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,54	1,26
Ergebnisse im Zielbereich	12	5
Prozent im Zielbereich	92	100

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine Verteilung ohne eindeutige Methoden abhängige Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden sowie für Methode RS-F zeigte jeweils eine normale bzw. geringe Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen im Bereich unter 2,0 bzw. unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen 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 methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 48% (X_{ALL}) bzw. 59% (X_{RS-F}) vom Zusatzniveau von β -Lactoglobulin zur Dotierungsniveauprobe an der unteren Grenze bzw. innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.32 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für β -Lactoglobulin").

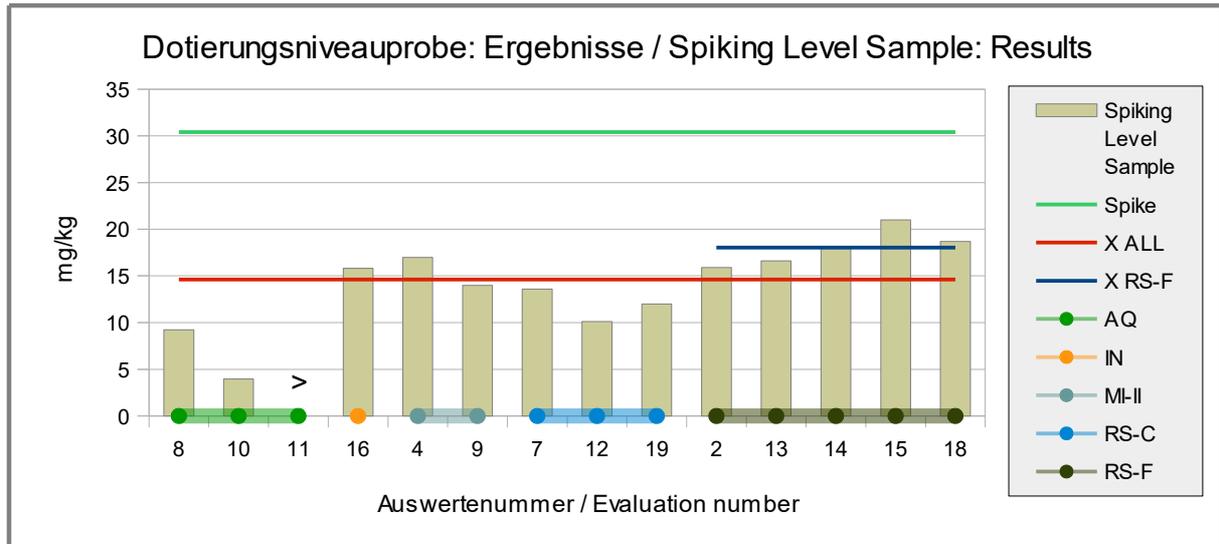


Abb./Fig. 7: ELISA-Ergebnisse β -Lactoglobulin
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

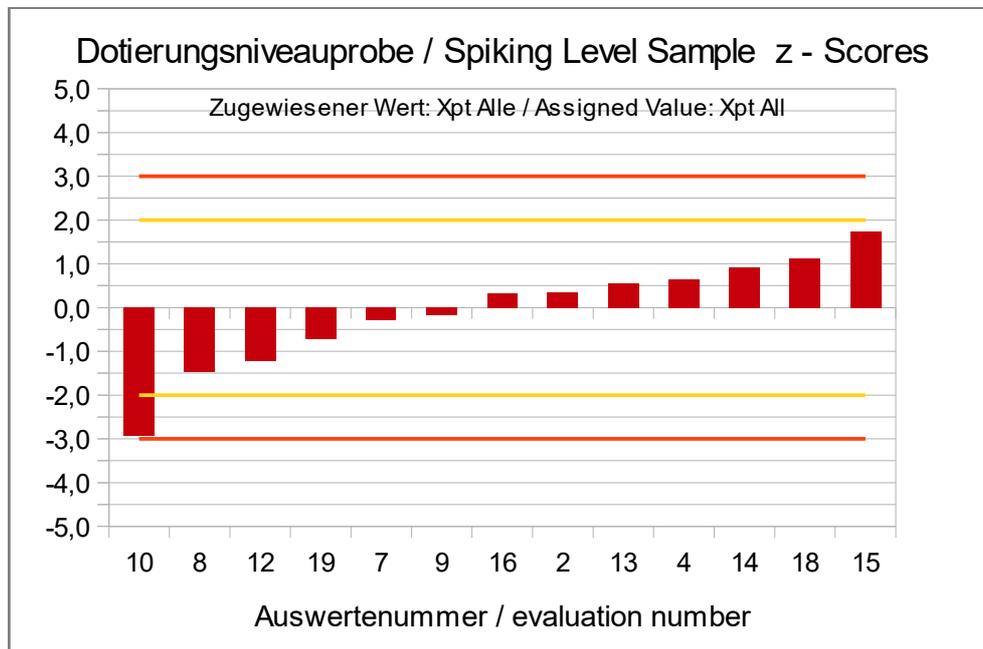


Abb./Fig. 8:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als β -Lactoglobulin
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

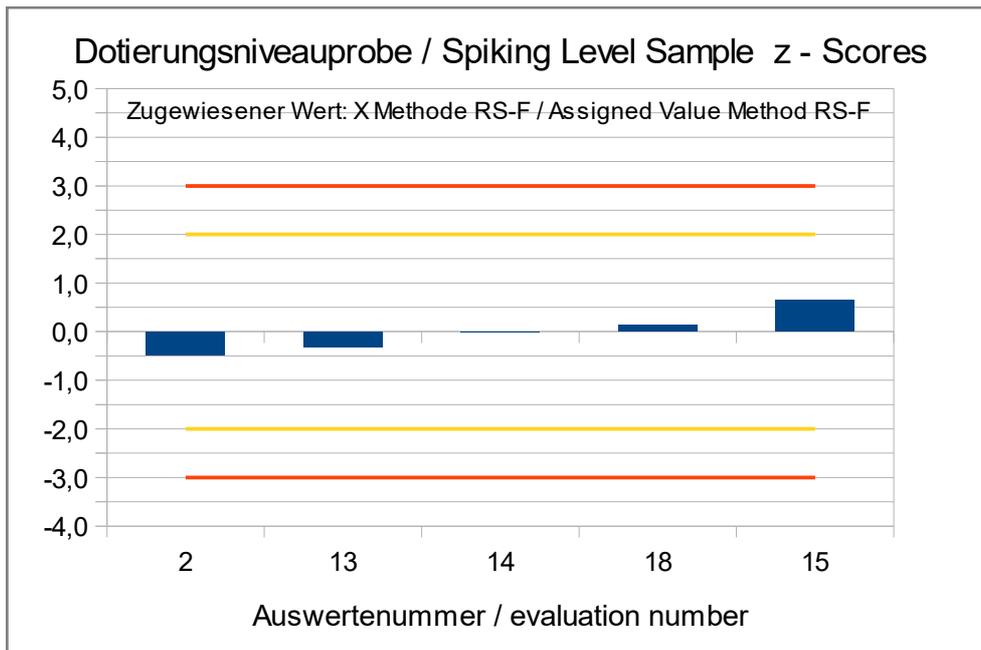


Abb./Fig. 9:

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B - A (Differenz)	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
8	9,22	30	-2,8	4,11	18	-3,3	AQ	
10	3,95	13	-3,5	0,34	1,5	-3,9	AQ	
11	> 0,4			0,35	1,5	-3,9	AQ	
16	15,8	52	-1,9	6,90	31	-2,8	IN	
4	17,0	56	-1,8	9,51	42	-2,3	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	14,0	46	-2,2	10,1	45	-2,2	MI-II	
7	13,6	45	-2,2	26,2	116	0,64	RS-C	
12	10,1	33	-2,7	26,7	118	0,72	RS-C	
19	12,0	39	-2,4	29,0	128	1,1	RS-C	
2	15,9	52	-1,9	3,07	14	-3,5	RS-F	
13	16,6	55	-1,8	11,9	52	-1,9	RS-F	
14	18,0	59	-1,6	14,3	63	-1,5	RS-F	
15	21,0	69	-1,2	14,0	62	-1,5	RS-F	
18	18,7	62	-1,5	11,5	51	-2,0	RS-F	

° Umrechnung S. 20

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	7	Anzahl im AB	7
Prozent im AB	54	Prozent im AB	50

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: beta-Lactoglobulin, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: beta-Lactoglobulin, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

IN = Ngezim, Ingenasa

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

54% (7) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die Berechnung der Wiederfindungsraten der dotierten Probe B wurden die β -Lactoglobulin-Ergebnisse der Lebensmittelmatrix-Probe A, soweit angegeben, von den Ergebnissen für Probe B abgezogen. Somit lagen 50% (7) der Wiederfindungsraten für Probe B im Akzeptanzbereich von 50-150%.

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

Hinweis zu Methode RS-C:

Natives, intaktes β -Lactoglobulin wird im Testkit unterbestimmt im Vergleich zu hydrolysiertem β -Lactoglobulin (in hydrolysierten Lebensmitteln sind mehr Epitope zugänglich für die Antikörperbindung) (Test-Kit Manual, R4901).

4.1.2 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		
11	negativ	<0,2	positiv	4,9	2/2 (100%)	AQ	
17	negativ	<1	positiv	7,6	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	0,46	positiv	8,2	2/2 (100%)	AQ	
10	negativ	<0,2	positiv	3,84	2/2 (100%)	IL	
16a	negativ	<0,3	positiv	8,7	2/2 (100%)	IN	
8	negativ		positiv	12,01	2/2 (100%)	MI	Ergebnis umgerechnet °
4	negativ	<0,62	positiv	16,68	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	negativ	<0,25	positiv	13	2/2 (100%)	MI-II	
1	negativ	<0,5	positiv	2,5	2/2 (100%)	RS-F	
2	positiv	2,7	positiv	11,3	1/2 (50%)	RS-F	
3	negativ		positiv	3,2	2/2 (100%)	RS-F	
6	negativ	<0,5	positiv	4,6	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<0,5	positiv	5,3	2/2 (100%)	RS-F	
14	negativ	< 2,5	positiv	17	2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ	< 0,5	positiv	2,6	2/2 (100%)	RS-F	
19	-		positiv	8,6	1/1 (100%)	RS-F	
16b	negativ	<0,2	positiv	6,6	2/2 (100%)	SP	

° Umrechnung S. 20

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	1	17
Anzahl negativ	15	0
Prozent positiv	6	100
Prozent negativ	94	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der teilweise geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde die statistische Auswertung rein informativ vorgenommen.

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z'-Score X _{pt} ^{ALL}	z-Score X _{pt} ^{RS-F}	Methode	Hinweis
11	4,90	-1,2		AQ	
17	7,60	-0,09		AQ	
18	8,20	0,16		AQ	
10	3,84	-1,6		IL	
16a	8,70	0,37		IN	
8	12,0	1,7		MI	Ergebnis umgerechnet °
4	16,7	3,7		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	13,0	2,1		MI-II	
1	2,50	-2,2	-2,0	RS-F	
2	11,3	1,4	5,1	RS-F	
3	3,20	-1,9	-1,4	RS-F	
6	4,60	-1,3	-0,28	RS-F	
13	5,30	-1,0	0,28	RS-F	
14	17	3,8	9,7	RS-F	
15	2,60	-2,2	-1,9	RS-F	
19	8,60	0,33	2,9	RS-F	
16b	6,60	-0,50		SP	

° Umrechnung S. 20

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

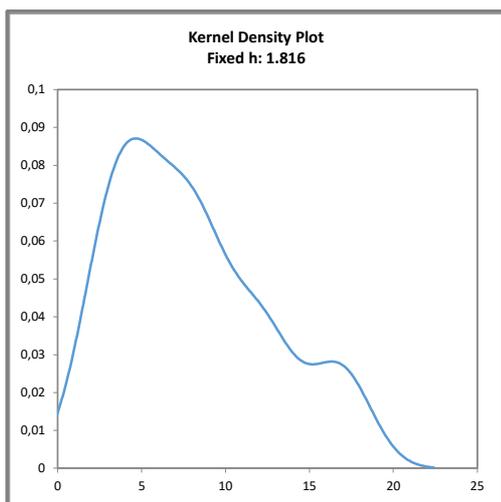


Abb. / Fig. 10:

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 eine breite Verteilung der Ergebnisse mit einem Maximum bei ca. 5 mg/kg und mehreren Schultern bis zu einem Bereich von 20 mg/kg.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein

Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der teilweise geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde die statistische Auswertung rein informativ vorgenommen.

Probe B

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	17	8
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	8,04	6,89
Median (X_{pt})⁺	7,60	4,95
Robuster Mittelwert (X_{pt})⁺⁺	7,81	6,48
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,72	4,82
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}' bzw. σ_{pt}	2,42	1,24
Untere Grenze des Zielbereichs	2,97	2,48
Obere Grenze des Zielbereichs	12,7	7,43
<i>Quotient S^*/σ_{pt}' bzw. S^*/σ_{pt}</i>	2,0	3,9
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	1,43	2,13
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	12	5
<i>Prozent im Zielbereich</i>	71	63

⁺ Bezugswert (X_{pt}) für Methode RS-F: Median

⁺⁺ Bezugswert (X_{pt}) für alle Ergebnisse: rob. Mittelwert

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine breite Verteilung der Ergebnisse mit möglicherweise methodenabhängigen Unterschieden. Für die Methode RS-F lagen ≥ 5 Einzelergebnisse vor, sodass eine separate Auswertung möglich war. Für die anderen Methoden lagen jeweils nur 1-3 Ergebnisse vor. Aus diesem Grund konnten keine separaten Auswertungen durchgeführt werden. Daher wurde trotz der breiten Verteilung eine rein informative Auswertung über alle Methoden vorgenommen. Der sich ergebende Zielbereich besitzt keine Gültigkeit für die Einzelmethoden.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^/σ_{pt} von $> 2,0$ auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet. Die Verteilung der Ergebnisse von Methode RS-F wies ebenfalls eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten S^*/σ_{pt} von $> 2,0$ auf. Auf eine Auswertung mittels z' -Score wurde verzichtet, da der Zielbereich andernfalls unangemessen groß wird.*

Der robuste Mittelwert bzw. Median der Auswertungen lag mit 50% (X_{ALL}) vom Zusatzniveau von Casein zu Probe B noch innerhalb bzw. mit 32% (X_{RS-F}) un-

terhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.42 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Casein").

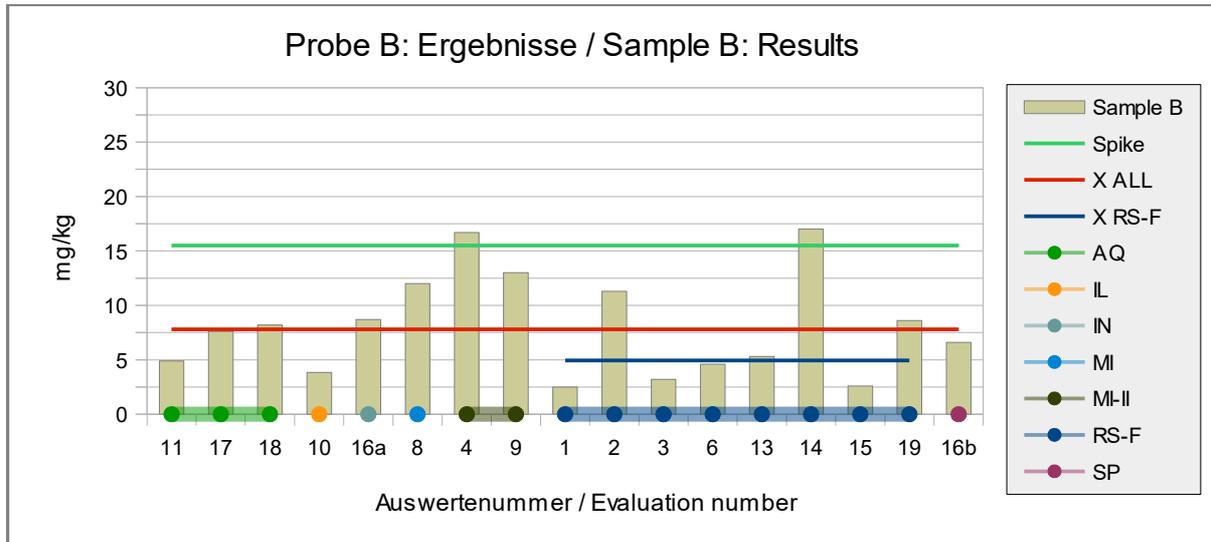


Abb./Fig. 11: ELISA-Ergebnisse Casein
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

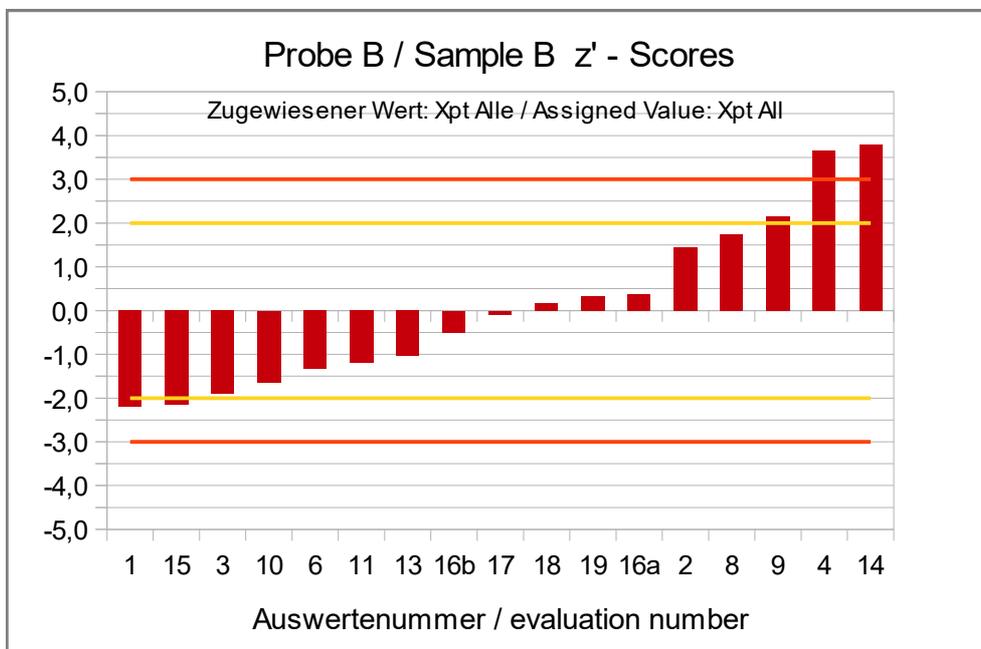


Abb./Fig. 12:
 z'-Scores ELISA-Ergebnisse als Casein
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

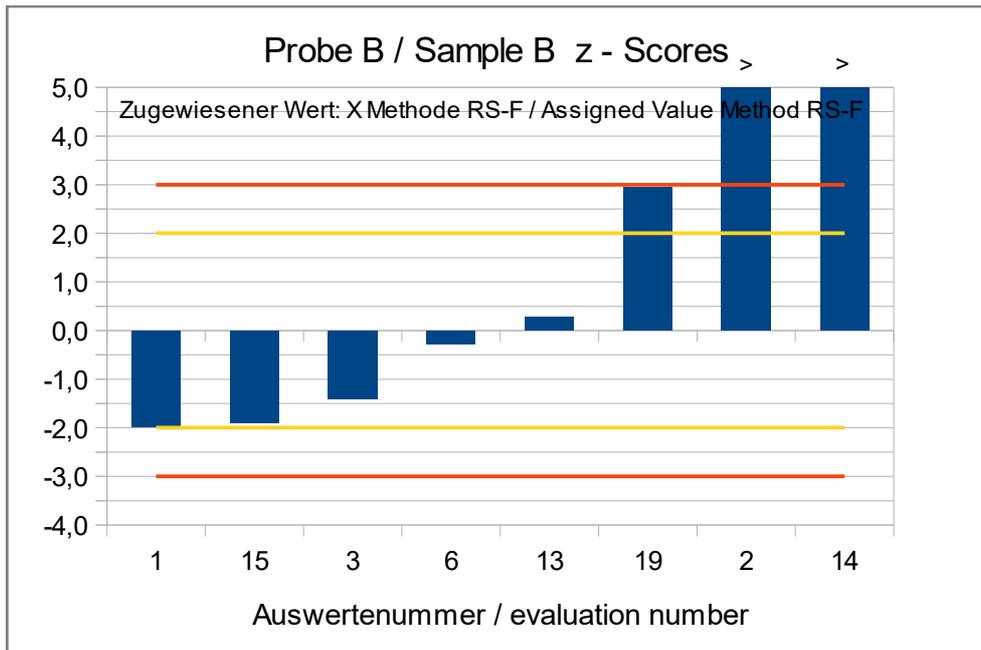


Abb./Fig. 13:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Casein, Bezugswert Median
 Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
11	9,4	-2,3		AQ	
17	22,1	-0,09		AQ	
18	18,6	-0,70		AQ	
10	29,0	1,1		IL	
16a	21,9	-0,12		IN	
8	15,8	-1,2		MI	Ergebnis umgerechnet °
4	21,1	-0,26		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	13,0	-1,7		MI-II	
1	22,5	-0,01	-0,25	RS-F	
2	24,0	0,25	0,00	RS-F	
3	38,7	2,9	2,5	RS-F	
6	>13.5			RS-F	
13	23,2	0,11	-0,13	RS-F	
14	24,0	0,25	0,00	RS-F	
15	22,0	-0,10	-0,33	RS-F	
19	49,0	4,7	4,2	RS-F	
16b	26,3	0,66		SP	

° Umrechnung S. 20

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI = Morinaga Institute ELISA
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

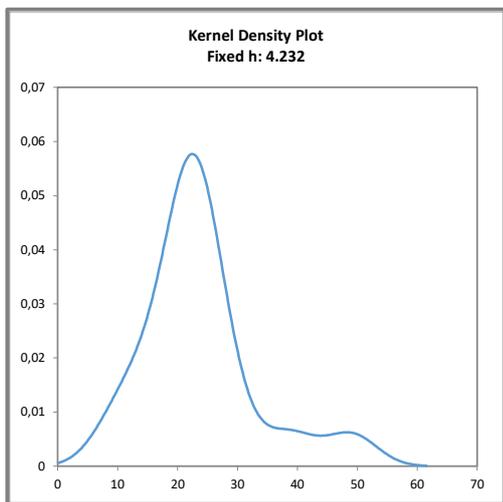


Abb. / Fig. 14:

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 einen Hauptpeak mit annähernd symmetrischer Verteilung sowie einer leichten Schulter bei ca. 10 mg/kg und kleine Nebenpeaks bei >30 mg/kg.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	16	7
Anzahl der Ausreißer	–	–
Mittelwert	23,8	29,1
Median (X_{pt})⁺	22,3	24,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})^{**}	22,6	27,8
Robuste Standardabweichung (S^*)	6,56	6,64
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	5,64	6,00
Untere Grenze des Zielbereichs	11,3	12,0
Obere Grenze des Zielbereichs	33,9	36,0
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	1,1
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,05	3,14
Ergebnisse im Zielbereich	13	5
Prozent im Zielbereich	81	71

⁺ Bezugswert (X_{pt}) für Methode RS-F: Median

^{**} Bezugswert (X_{pt}) für alle Ergebnisse: rob. Mittelwert

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung.

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

Der robuste Mittelwert bzw. Median der Auswertungen lag mit 147% (X_{ALL}) bzw. 156% (X_{RS-F}) vom Zusatzniveau von Casein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb bzw. knapp oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.42 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Casein").

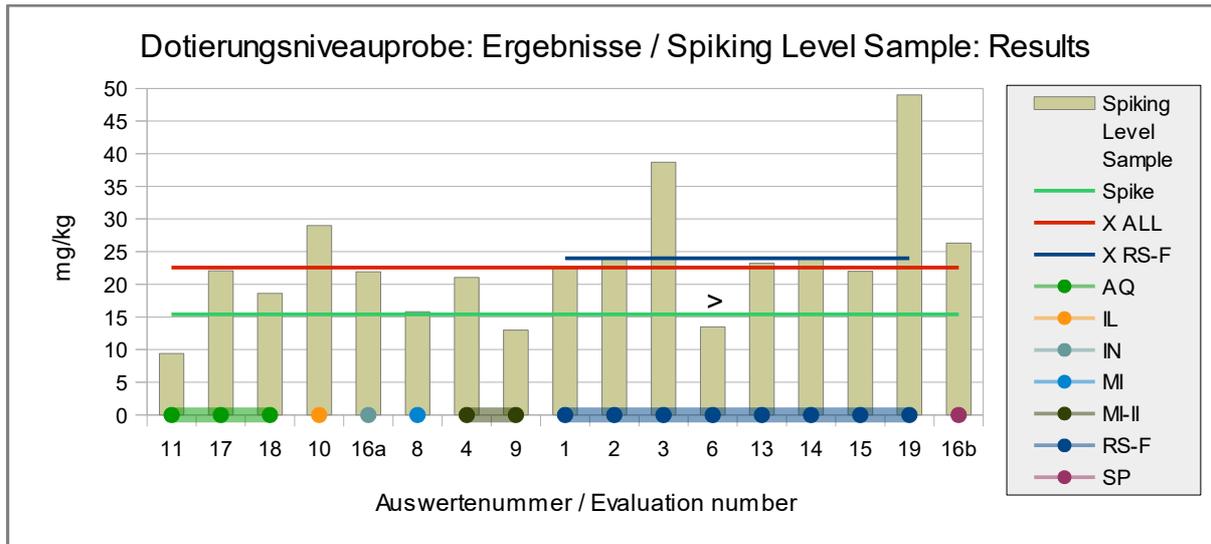


Abb./Fig. 15: ELISA-Ergebnisse Casein
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

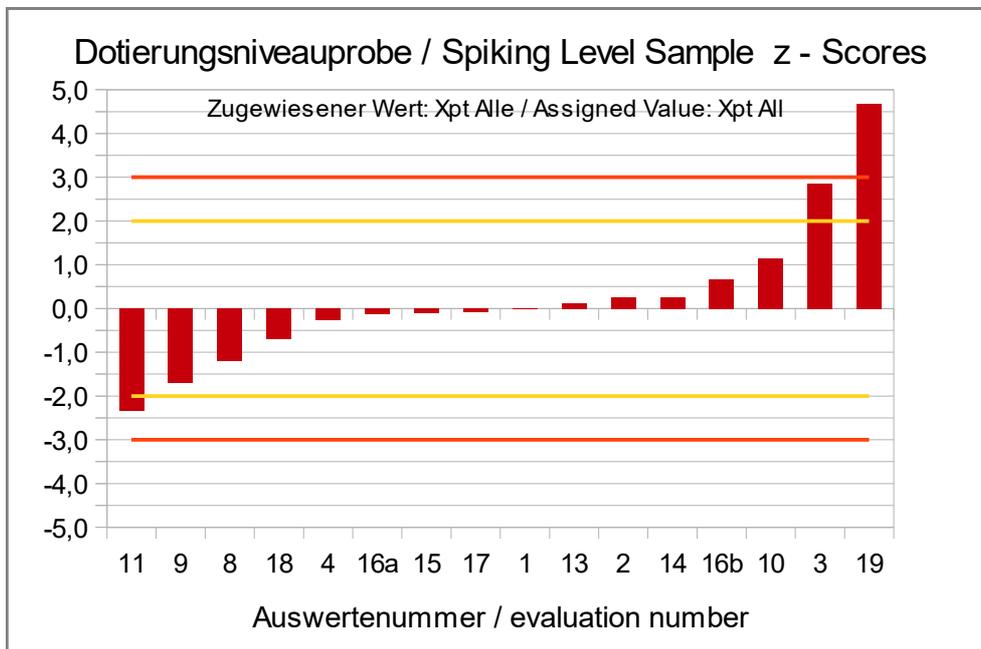


Abb./Fig. 16:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als Casein
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

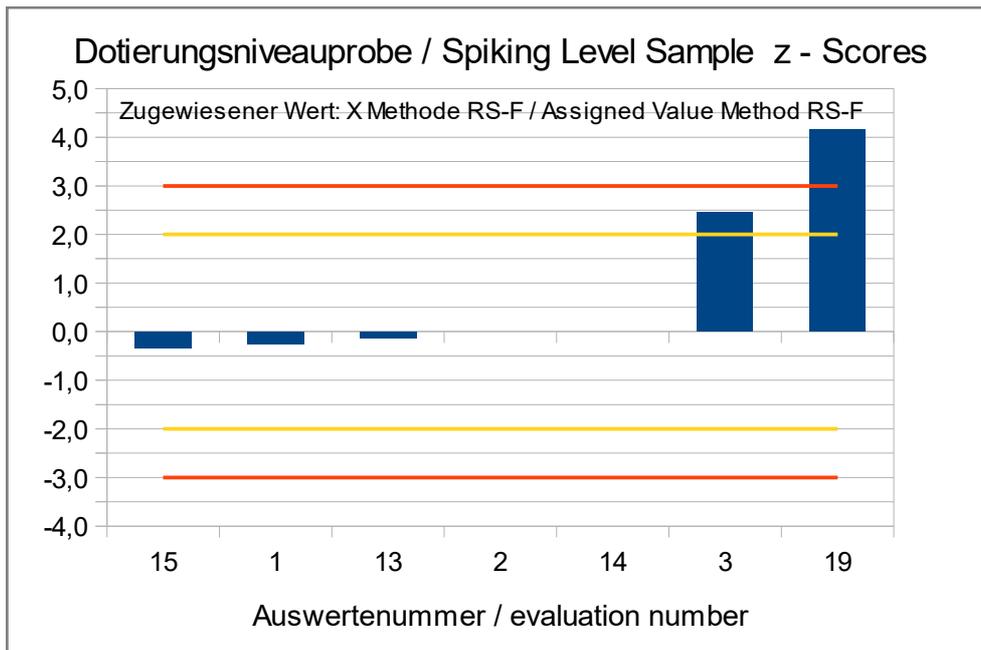


Abb./Fig. 17:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Casein, Bezugswert Median
Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
11	9,40	61	-1,6	4,90	32	-2,7	AQ	
17	22,1	143	1,7	7,60	49	-2,0	AQ	
18	18,6	121	0,83	8,20	53	-1,9	AQ	
10	29,0	188	3,5	3,84	25	-3,0	IL	
16a	21,9	142	1,7	8,70	56	-1,8	IN	
8	15,8	103	0,10	12,0	77	-0,90	MI	Ergebnis umgerechnet °
4	21,1	137	1,5	16,7	108	0,30	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
9	13,0	84	-0,62	13,0	84	-0,65	MI-II	
1	22,5	146	1,8	2,50	16	-3,4	RS-F	
2	24,0	156	2,2	11,3	73	-1,1	RS-F	
3	38,7	251	6,1	3,20	21	-3,2	RS-F	
6	>13.5			4,60	30	-2,8	RS-F	
13	23,2	151	2,0	5,30	34	-2,6	RS-F	
14	24,0	156	2,2	17,0	110	0,39	RS-F	
15	22,0	143	1,7	2,60	17	-3,3	RS-F	
19	49,0	318	8,7	8,60	55	-1,8	RS-F	
16b	26,3	171	2,8	6,60	43	-2,3	SP	

° Umrechnung S. 20

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	9	Anzahl im AB	9
Prozent im AB	56	Prozent im AB	53

* 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

IL = Immunolab

MI = Morinaga Institute ELISA

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

56% (9) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 53% (9) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

Mit einer Ausnahme lagen alle Wiederfindungsraten für Probe B mit hydrolysierten Milchproteinen in der Matrix niedriger als für die Dotierungsniveauprobe (Matrix Kartoffelpulver). Bei 12 von 16 Ergebnissätzen wurde die Wiederfindungsrate um mehr als die Hälfte verringert. Möglicherweise führen Peptide von Milchproteinen zu einer anteiligen Maskierung von Antikörpern der Test-Methoden.

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

4.1.3 ELISA-Ergebnisse: Milch (als Gesamt-Milchprotein)

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		
2	positiv	8,2	positiv	218	2/2 (100%)	RS-F	
3	positiv	7,1	positiv	16,3	2/2 (100%)	RS-F	
6	positiv	6,5	positiv	>67,5	2/2 (100%)	RS-F	
13	positiv	9,8	positiv	36,3	2/2 (100%)	RS-F	
16	-	-	positiv	226	2/2 (100%)	RS-F	
9	positiv	0,91	positiv	12,0	2/2 (100%)	SP	
20	positiv	0,80	positiv	15,6	2/2 (100%)	SP	
5	negativ	< LOQ	positiv	11,0	1/2 (50%)	VT	
10	negativ	<0,88	positiv	4,39	1/2 (50%)	VT	Ergebnis umgerechnet *

* Umrechnung S. 20

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	9
Anzahl negativ	2	0
Prozent positiv	75	100
Prozent negativ	25	0
Konsenswert	positiv	positiv

Methoden:

RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Der Konsenswert für Probe B steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Für Probe A wurde ebenfalls ein Konsenswert von ≥ 75% positiven Ergebnissen erhalten. Die Probenmatrix enthält hydrolysierte Milchproteine, die wahrscheinlich Ursache für die positiven ELISA-Ergebnisse sind.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A und Probe B

Aufgrund der Heterogenität der Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen gleicher Testkits wurde keine quantitative Auswertung der Ergebnisse vorgenommen.

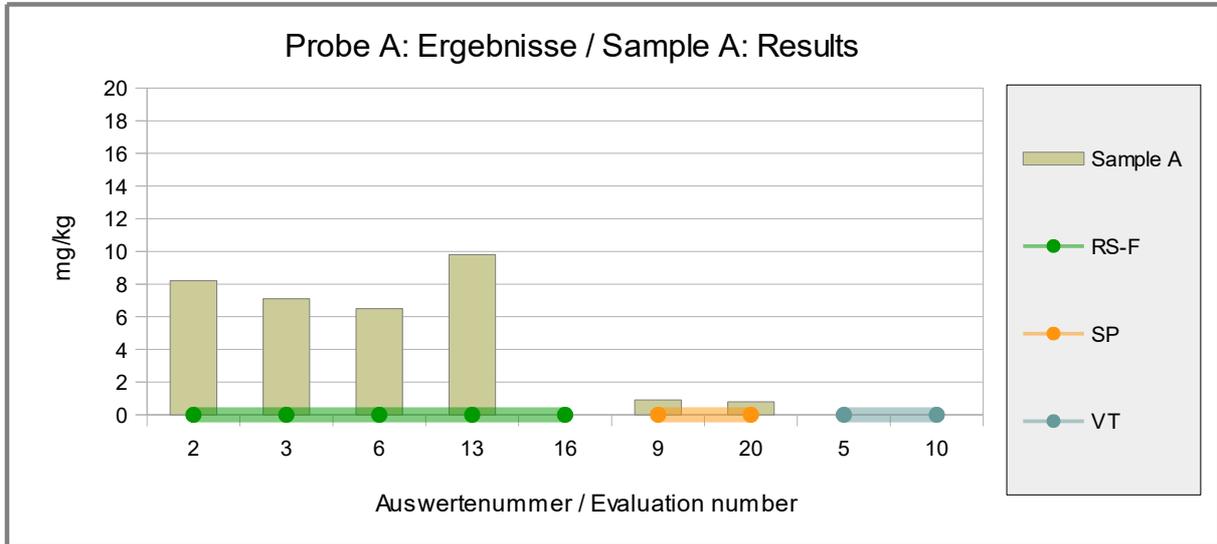


Abb./Fig. 18: ELISA-Ergebnisse Milch (als Gesamt-Milchprotein)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

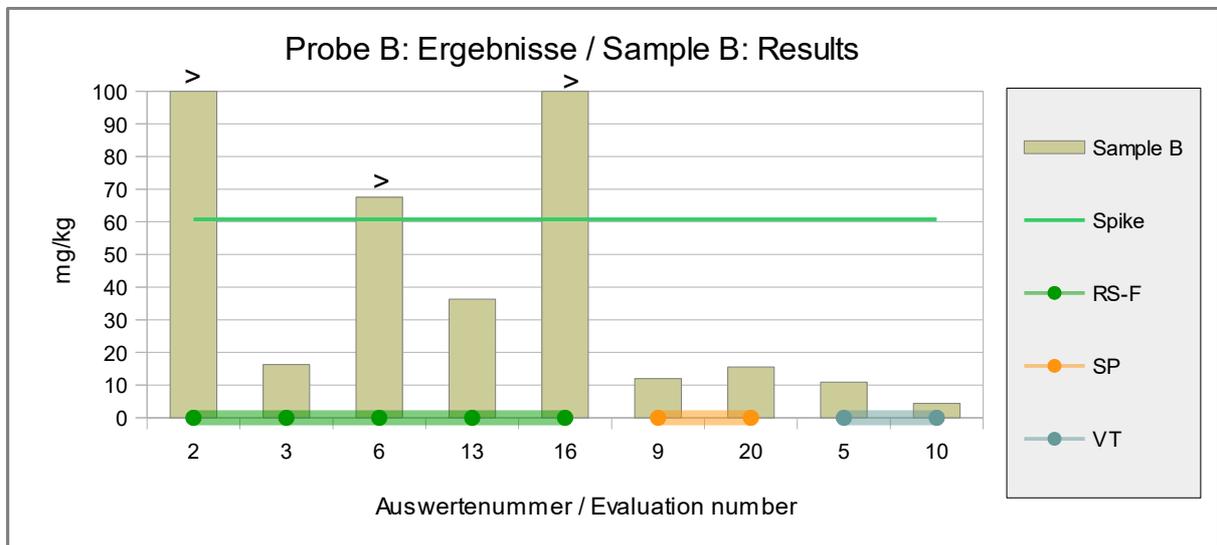


Abb./Fig. 19: ELISA-Ergebnisse Milch (als Gesamt-Milchprotein)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Aufgrund der Heterogenität der Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen gleicher Testkits wurde keine quantitative Auswertung der Ergebnisse vorgenommen.

Auswertenummer	Gesamt-Milchprotein pos/neg	Gesamt-Milchprotein [mg/kg]	z-Score X _{pt} _{ALL}	Methode	Hinweis
2	positiv	203		RS-F	
3	positiv	317		RS-F	
6	positiv	>67,5		RS-F	
13	positiv	43,2		RS-F	
16	positiv	345		RS-F	
9	positiv	39,0		SP	
20	positiv	51,8		SP	
5	positiv	65,0		VT	
10	positiv	47,4		VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Anzahl positiv	9
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

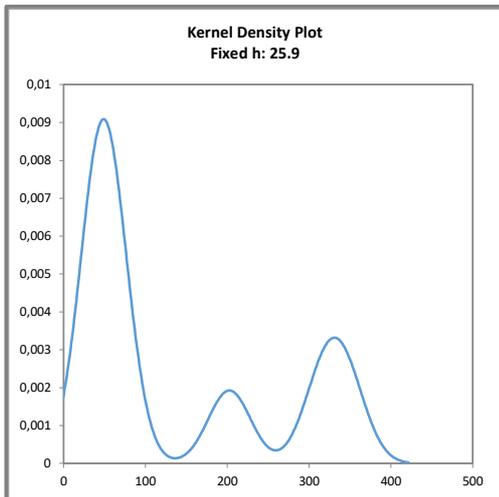


Abb. / Fig. 20:

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 einen Hauptpeak sowie zwei kleinere Nebenpeaks.

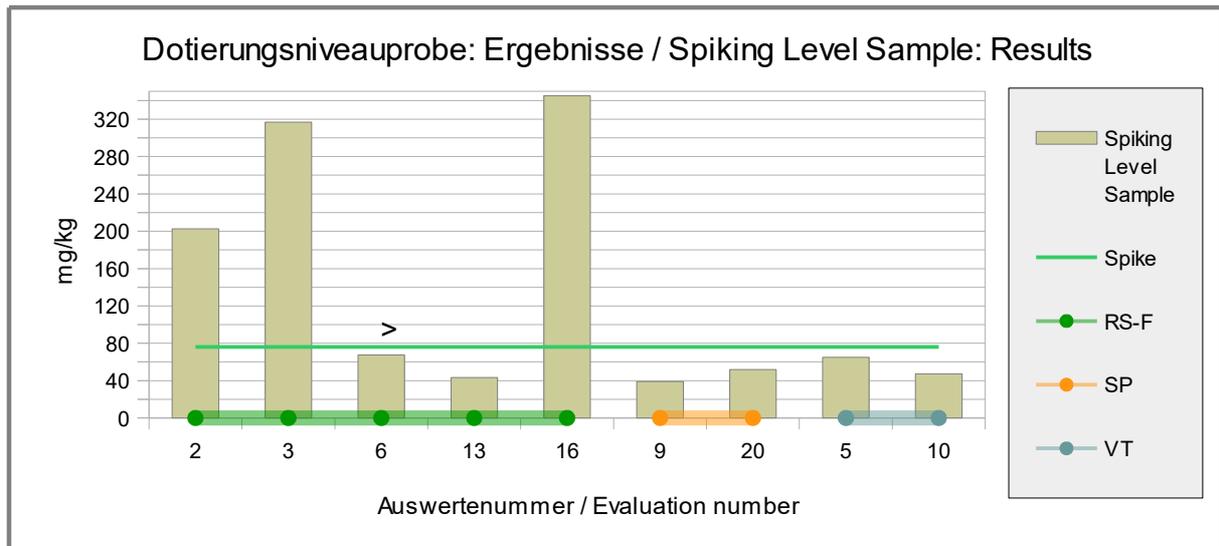


Abb./Fig. 21: ELISA-Ergebnisse Milch als Gesamt-Milchprotein
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B - A (Differenz)	Wiederfindungsrate*			Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
2	203	266	6,6	210	345	10	RS-F		
3	317	416	13	9,20	15	-3,4	RS-F		
6	>67,5						RS-F		
13	43,2	57	-1,7	26,5	44	-2,3	RS-F		
16	345	453	14	226	372	11	RS-F		
9	39,0	51	-2,0	11,1	18	-3,3	SP		
20	51,8	68	-1,3	14,8	24	-3,0	SP		
5	65,0	85	-0,59	11,0	18	-3,3	VT		
10	47,4	62	-1,5	4,39	7,2	-3,7	VT	Ergebnis umgerechnet °	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	5	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	63	Prozent im AB	0

Methoden:

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

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

Anmerkung:

63% (5) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die Berechnung der Wiederfindungsraten der prozessierten dotierten Probe B wurden die Milchprotein-Ergebnisse der Lebensmittelmatrix-Probe A, soweit angegeben, von den Ergebnissen für Probe B abgezogen. Somit lag keine der Wiederfindungsraten für Probe B im Akzeptanzbereich von 50-150%.

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

Es ist zu beachten, dass die Milchprotein-Zusammensetzung der EP-Proben nicht dem natürlichen Verhältnis von Casein zu Molkenprotein entspricht. Der Molkenproteinanteil ist erhöht (s. Seite 5). Dies kann je nach Spezifität der eingesetzten Methoden zu einer veränderten Response für Gesamt-Milchprotein führen.

4.2 Vergleichsuntersuchung Weizen (Gluten)

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
20	negativ	0	positiv	26,0	2/2 (100%)	IL	
1	negativ	<3,0	positiv	19,8	2/2 (100%)	RS	
2	negativ	<5	positiv	17,5	2/2 (100%)	RS	
3	negativ		positiv	164	2/2 (100%)	RS	
4	negativ	<5	positiv	12,4	2/2 (100%)	RS	
5	negativ	< LOQ	positiv	35,8	2/2 (100%)	RS	
6	negativ	<10	positiv	22,1	2/2 (100%)	RS	
7	negativ	<5	positiv	26,9	2/2 (100%)	RS	
8	negativ		positiv	25,1	2/2 (100%)	RS	
9a	negativ	<5	positiv	18,0	2/2 (100%)	RS	
12	negativ	<5	positiv	21,9	2/2 (100%)	RS	
13	negativ	<6,6	positiv	22,1	2/2 (100%)	RS	
14	negativ	<5,0	positiv	19,6	2/2 (100%)	RS	
15	negativ	<5	positiv	22,0	2/2 (100%)	RS	
16a	negativ	<5,0	positiv	21,0	2/2 (100%)	RS	
17	negativ	<5	positiv	24,0	2/2 (100%)	RS	
18	negativ		positiv	18,9	2/2 (100%)	RS	
19	-		positiv	26,0	1/1 (100%)	RS	
9b	negativ	<5	positiv	20,0	2/2 (100%)	SP-H	
9c	negativ	<3,12	positiv	20,0	2/2 (100%)	SP-R5	
16b	negativ	<5,0	positiv	17,1	2/2 (100%)	SP-R5	
10	negativ	<3,0	positiv	16,6	2/2 (100%)	VT-R5	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	22
Anzahl negativ	21	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

SP-H = SensiSpec INgezim Hydrolysed Gluten, Eurofins

SP-R5 = SensiSpec INgezim Gluten R5, Eurofins

VT-R5 = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score X _{pt} ^{ALL}	z-Score X _{pt} ^{RS}	Methode	Hinweis
20	26,0	0,81		IL	
1	19,8	-0,34	-0,44	RS	
2	17,5	-0,76	-0,85	RS	
3	164	26,2	25,4	RS	
4	12,4	-1,7	-1,8	RS	
5	35,8	2,6	2,4	RS	
6	22,1	0,09	-0,03	RS	
7	26,9	0,97	0,84	RS	
8	25,1	0,64	0,51	RS	
9a	18,0	-0,67	-0,76	RS	
12	21,9	0,04	-0,07	RS	
13	22,1	0,09	-0,03	RS	
14	19,6	-0,38	-0,48	RS	
15	22,0	0,07	-0,04	RS	
16a	21,0	-0,12	-0,22	RS	
17	24,0	0,43	0,31	RS	
18	18,9	-0,50	-0,60	RS	
19	26,0	0,81	0,67	RS	
9b	20,0	-0,30		SP-H	
9c	20,0	-0,30		SP-R5	
16b	17,1	-0,84		SP-R5	
10	16,6	-0,93		VT-R5	

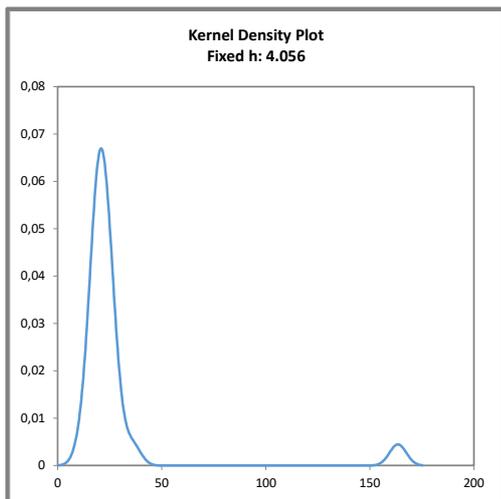
Methoden:

- IL = Immunolab
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- SP-H = SensiSpec INgezim Hydrolysed Gluten, Eurofins
- SP-R5 = SensiSpec INgezim Gluten R5, Eurofins
- VT-R5 = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 22:

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 einem Nebenpeak bei 164 mg/kg, der auf einen Einzelwert außerhalb des Zielbereiches zurückgeht.

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS}$
Anzahl der Messergebnisse	22	17
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	28,0	30,4
Median	21,4	22,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	21,6	22,3
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,34	4,46
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	5,41	5,56
Untere Grenze des Zielbereichs	10,8	11,1
Obere Grenze des Zielbereichs	32,5	33,4
Quotient S^*/σ_{pt}	0,80	0,80
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,16	1,35
Ergebnisse im Zielbereich	20	15
Prozent im Zielbereich	91	88

Methoden:

RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS zeigten eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 143% (X_{ALL}) bzw. 148% (X_{RS}) vom Zusatzniveau von Gluten zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.57 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Gluten").

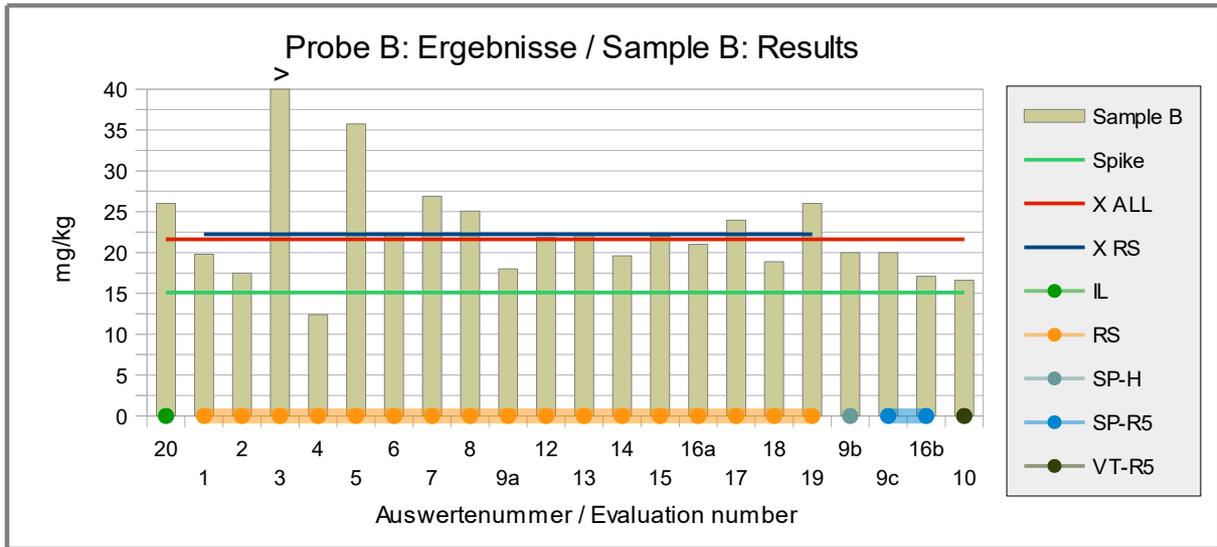


Abb./Fig. 23: ELISA-Ergebnisse Gluten
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

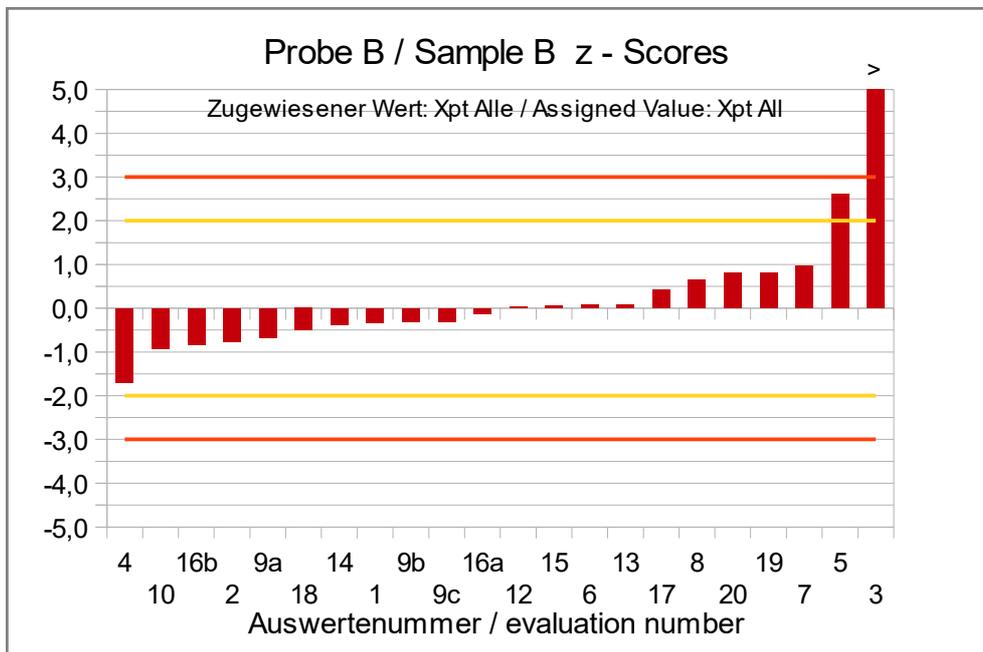


Abb./Fig. 24:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als Gluten
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

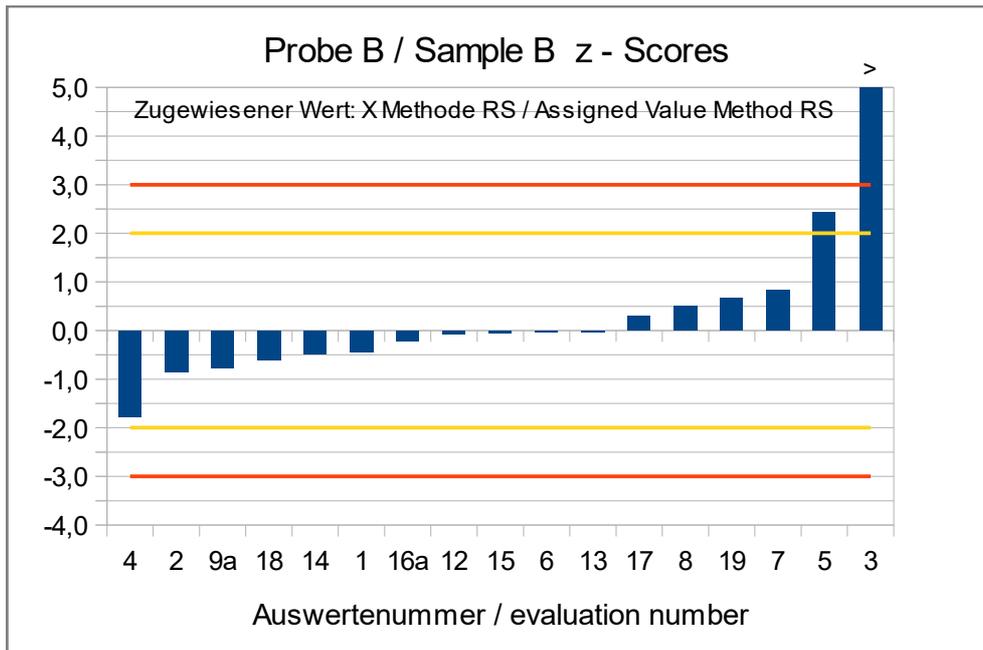


Abb./Fig. 25:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score X _{pt} _{ALL}	z-Score X _{pt} _{RS}	Methode	Hinweis
20	40,0	4,1		IL	
1	18,1	-0,34	-0,22	RS	
2	23,0	0,66	0,80	RS	
3	15,7	-0,82	-0,72	RS	
4	12,7	-1,4	-1,4	RS	
5	17,8	-0,39	-0,28	RS	
6	16,4	-0,68	-0,58	RS	
7	20,8	0,21	0,34	RS	
8	24,7	0,99	1,1	RS	
9a	18,0	-0,36	-0,24	RS	
12	16,1	-0,74	-0,64	RS	
13	18,8	-0,20	-0,08	RS	
14	20,1	0,07	0,19	RS	
15	19,0	-0,15	-0,03	RS	
16a	23,2	0,70	0,84	RS	
17	20,9	0,23	0,36	RS	
18	17,6	-0,44	-0,33	RS	
19	22,0	0,45	0,59	RS	
9b	25,0	1,1		SP-H	
9c	21,0	0,25		SP-R5	
16b	18,0	-0,36		SP-R5	
10	19,0	-0,15		VT-R5	

Methoden:

- IL = Immunolab
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- SP-H = SensiSpec INgezim Hydrolysed Gluten, Eurofins
- SP-R5 = SensiSpec INgezim Gluten R5, Eurofins
- VT-R5 = Veratox, Neogen

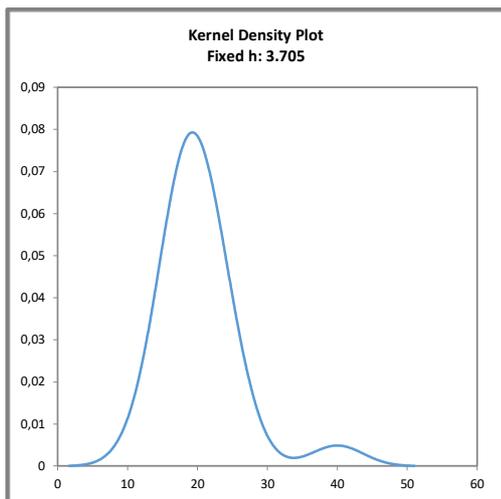


Abb. / Fig. 26:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit einem kleinen Nebenpeak bei ca. 40 mg/kg, der auf einen Einzelwert zurückgeht (Methode IL).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Gluten**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{ALL}	$X_{pt}_{METHOD RS}$
Anzahl der Messergebnisse	22	17
Anzahl der Ausreißer	-	0
Mittelwert	20,4	19,1
Median	19,0	18,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	19,8	19,2
Robuste Standardabweichung (S^*)	3,48	3,20
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,94	4,79
Untere Grenze des Zielbereichs	9,88	9,58
Obere Grenze des Zielbereichs	29,6	28,7
Quotient S^*/σ_{pt}	0,70	0,67
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,927	0,971
Ergebnisse im Zielbereich	21	17
Prozent im Zielbereich	95	100

Methoden:

RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS zeigten eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 135% (X_{ALL}) bzw. 131% (X_{RS}) vom Zusatzniveau von Gluten zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.57 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Gluten").

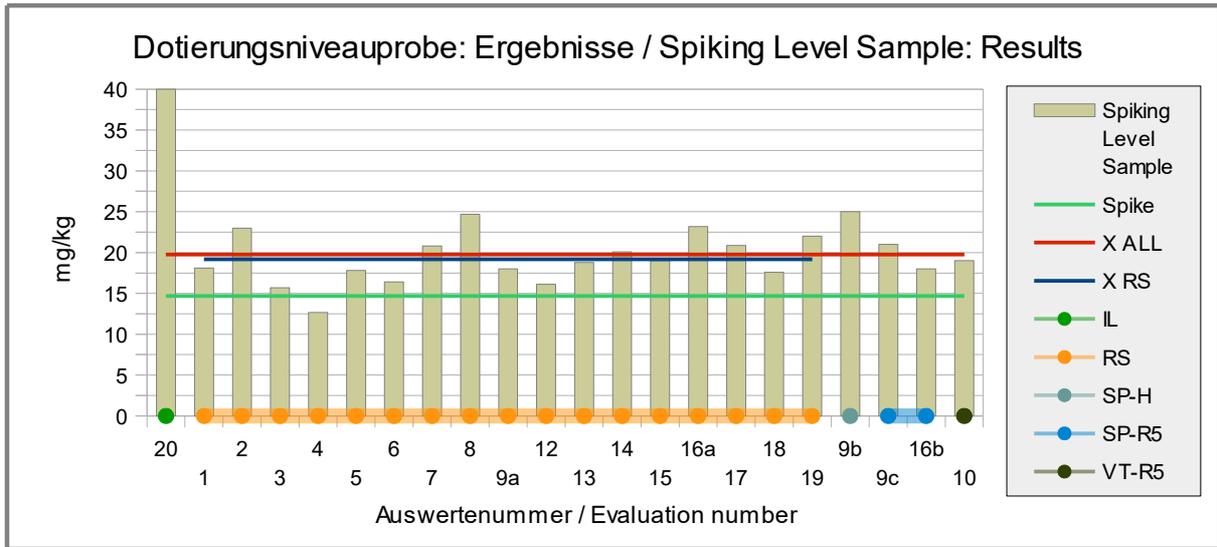


Abb./Fig. 27: ELISA-Ergebnisse Gluten
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

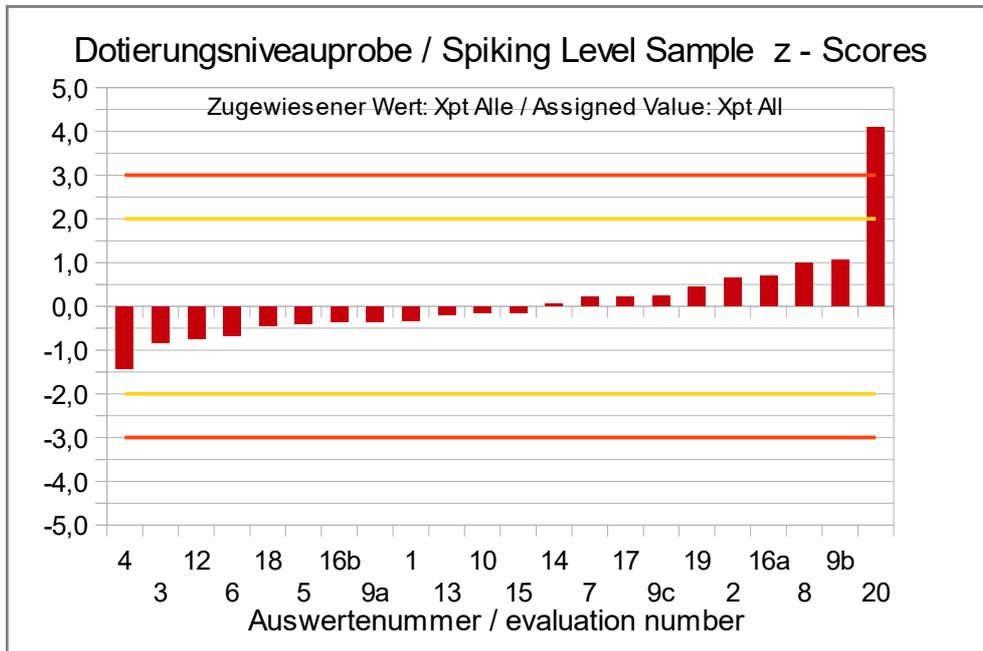


Abb./Fig. 28:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als Gluten
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

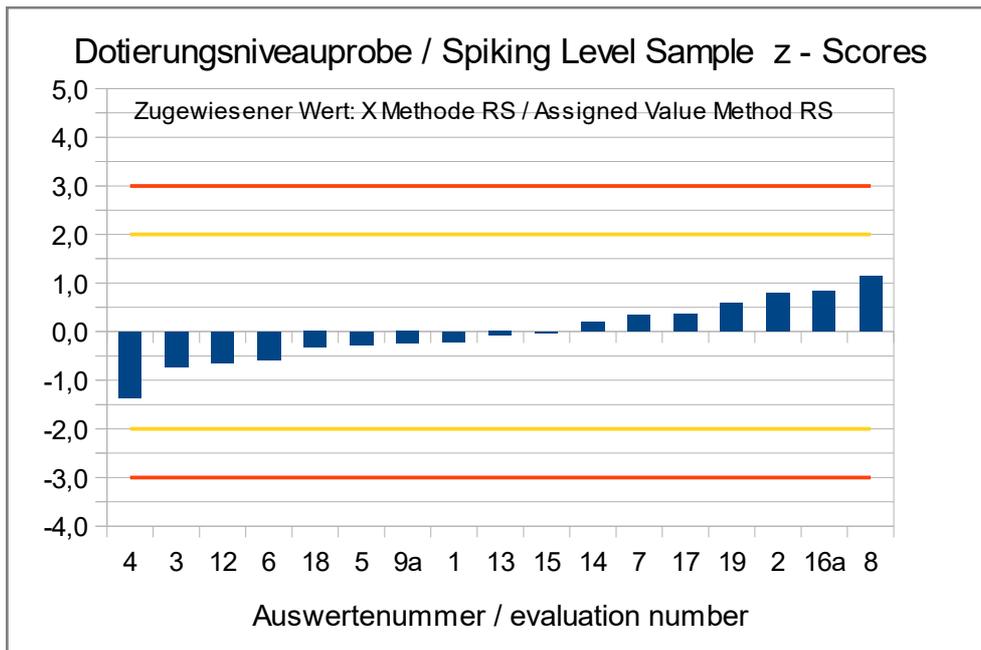


Abb./Fig. 29:

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
20	40,0	272	6,9	26,0	172	2,9	IL	
1	18,1	123	0,93	19,8	131	1,2	RS	
2	23,0	156	2,3	17,5	116	0,64	RS	
3	15,7	107	0,27	164	1083	39	RS	
4	12,7	86	-0,55	12,4	82	-0,72	RS	
5	17,8	121	0,85	35,8	237	5,5	RS	
6	16,4	112	0,46	22,1	146	1,9	RS	
7	20,8	141	1,7	26,9	178	3,1	RS	
8	24,7	168	2,7	25,1	166	2,6	RS	
9a	18,0	122	0,90	18,0	119	0,77	RS	
12	16,1	110	0,38	21,9	145	1,8	RS	
13	18,8	128	1,1	22,1	146	1,9	RS	
14	20,1	137	1,5	19,6	130	1,2	RS	
15	19,0	129	1,2	22,0	146	1,8	RS	
16a	23,2	158	2,3	21,0	139	1,6	RS	
17	20,9	142	1,7	24,0	159	2,3	RS	
18	17,6	120	0,79	18,9	125	1,0	RS	
19	22,0	150	2,0	26,0	172	2,9	RS	
9b	25,0	170	2,8	20,0	132	1,3	SP-H	
9c	21,0	143	1,7	20,0	132	1,3	SP-R5	
16b	18,0	122	0,90	17,1	113	0,53	SP-R5	
10	19,0	129	1,2	16,6	110	0,40	VT-R5	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	17	Anzahl im AB	15
Prozent im AB	77	Prozent im AB	68

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

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

Methoden:

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

SP-H = SensiSpec INgezim Hydrolysed Gluten, Eurofins

SP-R5 = SensiSpec INgezim Gluten R5, Eurofins

VT-R5 = Veratox, Neogen

Anmerkung:

77% (17) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 68% (15) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Gluten-haltige Getreide (Weizen)

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		
10a	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	FP	
10b	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	GR	
10c	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	SFA-ID	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	4
Anzahl negativ	4	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv
Dotierung	negativ	positiv

Methoden:

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GR = SPECIALfinder Assay, Generon
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Gluten-halt. Getreide	Gluten-halt. Getreide	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweise
	pos/neg	[mg/kg]			
10a	positiv			FP	
10b	positiv			GR	
10c	positiv			SFA-ID	
9	positiv			div	

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

Methods:

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
 GR = SPECIALfinder Assay, Generon
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA β-Lactoglobulin: Xpt (div. Methoden)		ELISA β-Lactoglobulin: Xpt (Methode: RS-F)		ELISA Casein: Xpt (div. Methoden)		ELISA Casein: Xpt (Methode: RS-F)	
	Probe B*	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B° #	Dot. Probe	Probe B #	Dot. Probe
1					-2,2	-0,01	-2,0	-0,25
2	-2,7	0,35	-2,8	-0,47	1,4	0,25	5,1	0,00
3					-1,9	2,9	-1,4	2,5
4	0,66	0,65			3,7	-0,26		
5								
6					-1,3		-0,28	
7		-0,28						
8		-1,5			1,7	-1,2		
9	-0,14	-0,17			2,1	-1,7		
10		-2,9			-1,60	1,1		
11					-1,2	-2,3		
12		-1,2						
13	0,28	0,55	0,08	-0,32	-1,0	0,11	0,28	-0,13
14	1,0	0,93	0,78	-0,01	3,8	0,25	9,7	0,00
15	0,92	1,8	0,68	0,66	-2,2	-0,10	-1,9	-0,33
16/16a	-1,3	0,33			0,37	-0,12		
16b					-0,50	0,66		
17					-0,09	-0,09		
18	0,25	1,1	0,05	0,15	0,16	-0,70		
19		-0,71			0,33	4,7	2,9	4,2
20								

Methoden: * PEAK 11 = INgezim (Ingenasa), ELISAKit II (Morinaga Inst.), Ridascreen® Fast (R-Biopharm)
 RS-F = Ridascreen® Fast (R-Biopharm)
 # informativ
 ° z'-Score

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)

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

Auswertenummer	ELISA Milch: Xpt (div. Methoden)		ELISA Gluten: Xpt (div. Methoden)		ELISA Gluten: Xpt (Methode: RS)	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1			-0,34	-0,34	-0,44	-0,22
2			-0,76	0,66	-0,85	0,80
3			26	-0,82	25	-0,72
4			-1,7	-1,4	-1,8	-1,4
5			2,6	-0,39	2,4	-0,28
6			0,09	-0,68	-0,03	-0,58
7			0,97	0,21	0,84	0,34
8			0,64	0,99	0,51	1,1
9a			-0,67	-0,36	-0,76	-0,24
9b			-0,30	1,1		
9c			-0,30	0,25		
10			-0,93	-0,15		
11						
12			0,04	-0,74	-0,07	-0,64
13			0,09	-0,20	-0,03	-0,08
14			-0,38	0,07	-0,48	0,19
15			0,07	-0,15	-0,04	-0,03
16/16a			-0,12	0,70	-0,22	0,84
16b			-0,84	-0,36		
17			0,43	0,23	0,31	0,36
18			-0,50	-0,44	-0,60	-0,33
19			0,81	0,45	0,67	0,59
20			0,81	4,1		

Methoden: RS = Ridascreen®, R-Biopharm

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

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

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

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

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

Auswertenummer	ELISA β -Lactoglobulin: Xpt (spiked level)		ELISA Casein: Xpt (spiked level)		ELISA Milch: Xpt (spiked level)		ELISA Gluten: Xpt (spiked level)	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1			-3,4	1,8			1,2	0,93
2	-3,5	-1,9	-1,1	2,2	10	6,6	0,64	2,30
3			-3,2	6,1	-3,4	13	39	0,27
4	-2,3	-1,8	0,30	1,5			-0,72	-0,55
5					-3,3	-0,59	5,5	0,85
6			-2,8				1,9	0,46
7	0,64	-2,2					3,1	1,7
8	-3,3	-2,8	-0,90	0,10			2,6	2,7
9/9a	-2,2	-2,2	-0,65	-0,62	-3,3	-2,0	0,77	0,90
9b							1,3	2,8
9c							1,3	1,7
10	-3,9	-3,5	-3,0	3,5	-3,7	-1,5	0,40	1,2
11	-3,9		-2,7	-1,6				
12	0,72	-2,7					1,8	0,4
13	-1,9	-1,8	-2,6	2,0	-2,3	-1,7	1,9	1,1
14	-1,5	-1,6	0,39	2,2			1,2	1,5
15	-1,50	-1,2	-3,3	1,7			1,8	1,2
16/16a	-2,8	-1,9	-1,8	1,7	11	14	1,6	2,3
16b			-2,3	2,8			0,53	0,90
17			-2,0	1,7			2,3	1,7
18	-2,0	-1,5	-1,9	0,83			1,0	0,79
19	1,1	-2,4	-1,8	8,7			2,9	2,0
20					-3,0	-1,3	2,9	6,9

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

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

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

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

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: β -Lactoglobulin

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	8	12.05.21	positiv	1,41	positiv	5,52	positiv	9,22	9,1	0,4	30	beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA β -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
AQ	10	07/June	negativ	<0,01	positiv	0,34	positiv	3,95	0,0015	0,01	15	beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA β -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
AQ	11		-		positiv	0,35	positiv	> 0,4	0,01	0,01		beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA β -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
IN	16	21.06.21	positiv	0,8	positiv	>4,0 (7,7*)	positiv	>4,0 (15,8*)		0,1		beta-Lactoglobulin	ingezim b-lactoglobulina 30.blg.k.2
MI-II	4	06.05.21	positiv	37,51	positiv	132,59	positiv	169,78	NA	0,31	NA	Milk proteins, total	Morinaga Beta-lactoglobulin ELISA Kit II (M2112)
MI-II	9	19.05.21	positiv	0,86	positiv	11	positiv	14	0,031	0,031		beta-Lactoglobulin	Morinaga Beta-lactoglobulin ELISA Kit II (M2112)
RS-C	7		-	7,3	-	33,5	-	13,6	1,4	5		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® β -Lactoglobulin R4901, R-Biopharm
RS-C	12	10.05.21	negativ	<5	positiv	26,65	positiv	10,12	2,1	5		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® β -Lactoglobulin R4901, R-Biopharm
RS-C	19		-		positiv	29	positiv	12		5		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® β -Lactoglobulin R4901, R-Biopharm
RS-F	2	20.05.21	positiv	0,57	positiv	3,64	positiv	15,9	0,04	0,167	20	beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST β -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	13	16.06.21	positiv	0,345	positiv	12,2	positiv	16,6		0,167		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST β -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	14		negativ	< 0,167	positiv	14,3	positiv	18	0,04	0,167		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST β -Lactoglobulin R4912, R-Biopharm
RS-F	15	21-June	negativ	< 0,5	positiv	14	positiv	21		0,5		beta-Lactoglobulin	Ridascreen FAST β -Lactoglobulin R4912, R-Biopharm
RS-F	18	21.05.21	positiv	0,58	positiv	12,1	positiv	18,7	0,17	0,17		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST β -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA β -Lactoglobulin:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	8			ja	
AQ	10			ja	
AQ	11			nein	
IN	16			ja	
MI-II	4		lt. Testkitanweisung, über Nacht extrahiert, Raumtemperatur	ja	gerine Wiederfindung für Probe A (29%) Verdünnung 1/20 angegeben, Ermittlung einer Wiederfindung für Probe B nicht möglich
MI-II	9	erkennt Kuhmilch- β Lac	lt. Herstellerangaben	ja	*10 = Gesamtmilchprotein
RS-C	7			nein	
RS-C	12		lt. Testkitanweisung	nein	
RS-C	19		Test kann zu Unterbefunden bei nativem β -Lactoglobulin führen.	ja	
RS-F	2	Kuhmilch (Kreuzreaktion: Schaf, Ziege, Büffel)	Extraktor2, 10 min bei 100°C; Allergenextraktionspuffer; 10 min bei 60°C	ja	
RS-F	13			nein	Probe weiter verdünnt 1:10
RS-F	14				ELISA-Test: R4912
RS-F	15			ja	
RS-F	18	beta-Lactoglobulin		ja	

5.1.2 ELISA: Casein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD*	BG / LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	11		negativ	<0,2	positiv	4,9	positiv	9,4	0,2	1		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	17	24.06.21	negativ	<1	positiv	7,6	positiv	22,07	0,04	1		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	18	24.06.21	positiv	0,46	positiv	8,2	positiv	18,6	0,2	0,2		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
IL	10	27.05.21	negativ	<0,2	positiv	3,84	positiv	29	0,04	0,2	15	Casein	Immunolab Casein ELISA
IN	16a	18.06.21	negativ	<0,3	positiv	>6,0 (8,7*)	positiv	>6,0 (21,9*)		0,3		Casein	ingezim caseina 30.blg.k.2
MI-I	8	11.05.21	negativ		positiv	15,1	positiv	19,8	0,625		30	Milchproteine, gesamt	Morinaga Casein ELISA Kit (M2102)
MI-II	4	06.05.21	negativ	<0,78	positiv	20,85	positiv	26,35	NA	0,31	NA	Milchproteine, gesamt	Morinaga Casein ELISA Kit II (M2113)
MI-II	9	17.05.21	negativ	<0,25	positiv	13	positiv	13	0,25	0,25		Casein	Morinaga Casein ELISA Kit II (M2113)
RS-F	1	04.05.2021	-	<0,5	-	2,5	-	22,5				Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	2	12.05.21	positiv	2,7	positiv	11,3	positiv	24	0,12	0,5	25	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	3	25.05.21	negativ		positiv	3,2	positiv	38,7	2,5			Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	6		negativ	<0,5	positiv	4,6	positiv	>13,5	0,24	0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	13		negativ	<0,5		5,3	-	23,2		2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	14		negativ	< 2,5	positiv	17	positiv	24	0,12	2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	15	21-Juni	negativ	< 0,5	positiv	2,6	positiv	22		0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	19		-		positiv	8,6	positiv	49		2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
SP	16b	18.06.21	negativ	<0,2	positiv	6,6	positiv	26,3		0,2		Casein	SensiSpec ELISA Casein, Eurofins

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	11			nein	
AQ	17	Casein	Extraktionslösung 15 min bei 60°C, 1:10 Verdünnung	nein	
AQ	18	Casein		ja	
IL	10			ja	
IN	16a			ja	
MI-I	8				
MI-II	4		lt. Testkitanweisung, Extraktion über Nacht, Raumtemperatur	ja	Wiederfindung Probe A (78%) Wiederfindung Probe B (73%)
MI-II	9	erkennt Kuhmilch-Casein	lt. Herstellerangaben	ja	*1,24 = Gesamtmilchprotein
RS-F	1				
RS-F	2	Kuhmilch (Kreuzreaktion: Schaf, Ziege, Büffel)	Extraktor2, 10 min bei 100°C; Allergenextraktionspuffer; 10 min bei 60°C	ja	
RS-F	3			ja	
RS-F	6				
RS-F	13			nein	Probe nicht weiter verdünnt
RS-F	14				
RS-F	15			ja	
RS-F	19			ja	
SP	16b			nein	

5.1.3 ELISA: Milch

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
RS-F	2	19.05.21	positiv	8,2	positiv	218,2	positiv	202,5	0,7	2,5	20	Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	3	21.05.21	positiv	7,1	positiv	16,3	positiv	316,8	3			Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	6		positiv	6,5	positiv	>67,5	positiv	>67,5	1,5	2,5		Milk proteins, total	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	13	21.06.21	positiv	9,8	positiv	36,3	-	43,16		2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
RS-F	16	24.06.21	-	-	positiv	>67,5 (225,6*)	positiv	>67,5 (344,8*)	0,7	2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
SP	9	04.06.21	positiv	0,91	positiv	12	positiv	39	0,4	0,4		Milchproteine, gesamt	andere: bitte eingeben!
SP	20	17.06.21	positiv	0,8	positiv	15,6	positiv	51,8	0,05	0,4		Casein + β-Lactoglobulin	SENSISpec Milk ELISA
VT	5	03.06.21	-	< LOQ	-	10,96	-	65	1	2	22	Milchproteine, gesamt	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	10	18/May	negativ	<2,5	positiv	12,5	positiv	135	1	2,5	18	Magermilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
RS-F	2	Kuhmilch (Kreuzreaktion: Schaf, Ziege, Büffel)	Extraktor2, 10 min bei 100°C; Allergenextraktionspuffer; 10 min bei 60°C	ja	
RS-F	3			ja	
RS-F	6				
RS-F	13			nein	Probe weiter verdünnt 1:2
RS-F	16			ja	Probe A: nicht-reproduzierbare Ergebnisse
SP	9		lt. Herstellerangaben	ja	SENSISpec Milch HU0030038
SP	20	Casein + BLG			Das Ergebnis für Probe B ist 15,6. Die Tabelle macht nur leider ein immer Datum daraus
VT	5	-	estrazione : PBS 10mM + extraction additive 15 m a 60 °C / incubazione 30 m / saggio eseguito a t amb	ja	Alni
VT	10			ja	

5.1.4 ELISA: Gluten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
IL	20	04.05.21	negativ	0	positiv	26	positiv	40	0,6	4		Gluten	Immunolab Gliadin ELISA
RS	1	10.05.21	-	<3,0	-	19,8	-	18,1				Gluten	Ridascreen
RS	2	20.05.21	negativ	<5	positiv	17,5	positiv	23	1	5	20	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	3	06.05.21	negativ		positiv	163,5	positiv	15,7	5			Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	4	27.05.21	negativ	<5	positiv	12,39	positiv	12,67	NA	5	NA	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	5	18.05.21	-	< LOQ	-	35,77	-	17,82	1	5	10	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	6		negativ	<10	positiv	22,1	positiv	16,4	3	10		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	7		-	<5	-	26,9	-	20,8	1	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	8	15.05.21	negativ		positiv	25,09	positiv	24,67		5	30	Gluten	
RS	9a	04.06.21	negativ	<5	positiv	18	positiv	18	3	5		Gluten	andere: bitte eingeben!
RS	12	17.05.21	negativ	<5	positiv	21,86	positiv	16,11	1	5		Gluten	Ridascreen Gliadin R 7001, R-Biopharm
RS	13	24.06.21	negativ	<6,6	positiv	22,11	-	18,78		6,6		Gluten	RIDASCREEN R7001
RS	14		negativ	< 5,0	positiv	19,6	positiv	20,1	1	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	15	22-June	negativ	< 5	positiv	22	positiv	19		5		Gluten	Ridascreen Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	16a	12.05.21	negativ	<5,0	positiv	21	positiv	23,2		5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	17	24.06.21	negativ	<5	positiv	23,96	positiv	20,88	1	5		Gluten	Ridascreen Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	18	01.06.21	negativ		positiv	18,9	positiv	17,6	5	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	19		-		positiv	26	positiv	22		5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
SP-H	9b	18.05.21	negativ	<5	positiv	20	positiv	25	5	5		Gluten	andere: bitte eingeben!
SP-R5	9c	11.05.21	negativ	<3,12	positiv	20	positiv	21	3,12	3,12		Gluten	andere: bitte eingeben!
SP-R5	16b	26/05/2002 1	negativ	<5,0	positiv	17,1	positiv	18		3,12		Gluten	Sensispe Ingezim Gluten R5 30.glu.k.2
VT-R5	10	27/May	negativ	<3,0	positiv	16,6	positiv	19	3	5	15	Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Gluten:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
IL	20				
RS	1				
RS	2	Gliadin aus Weizen (sowie Prolamine aus Roggen, Gerste, Dinkel)	Cocktaillösung, 40min bei 50°C; dann EtOH(60%) 1 hr bei RT	ja	
RS	3			ja	
RS	4		lt. Testkitanweisungen, ext 2021-05-26, ELISA 2021-05-27	ja	Wiederfindung Probe A (71%) Wiederfindung Probe B (77%)
RS	5	anticorpo monoclonale R5	estrazione : cocktail solution (ridascreen R7006) a 50 °C x 45 m + etanolo 80 % / incubazione 1h e 30 m / saggio eseguito a t amb	ja	Alini
RS	6				
RS	7		Extraktion mit Cocktaillösung	nein	
RS	8	R5	r-biopharm Ridascreeen	ja	
RS	9a	R5 Antikörper von Mendez erkennt Prolamine (Gliadine) aus Weizen, Roggen und Gerste	lt. Herstellerangaben	ja	r-biopharm R7001
RS	12		lt. Testkitanweisung	ja	
RS	13			No	nicht getestet
RS	14	monoklonaler AK 5			
RS	15	R5		ja	
RS	16a	R5		ja	
RS	17	Gliadin	Extraktion mit Cocktail-Lösung und Ethanol, 40 min bei 50°C, 1:500 Verdünnung	nein	
RS	18	Gliadine (R5-Antikörper)		ja	
RS	19			ja	
SP-H	9b	monoklonale Antikörper R5	lt. Herstellerangaben	ja	SENSISpec Ingezim Gluten Hidrolizado 30.GLH.K2
SP-R5	9c	R5 Antikörper von Mendez erkennt Prolamine (Gliadine) aus Weizen, Roggen und Gerste	lt. Herstellerangaben	ja	SENSISpec Ingezim Gluten 30.GLU.K2
SP-R5	16b	R5		ja	
VT-R5	10	R5		ja	

5.1.5 PCR: Glutenhaltige Getreide

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg					
FP	10a	14/June	negativ	-	positiv	-	positiv	-				Gluten	foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
GR	10b	25/May	negativ	-	positiv	-	positiv	-				Gluten	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
SFA-ID	10c	16/June	negativ	-	positiv	-	positiv	-				Gluten	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	9	03.06.21	negativ		positiv		positiv		5			Weizen-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 nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
FP	10a				
GR	10b			ja	
SFA-ID	10c				
div	9		CTAB / Proteinase K / Amylase A / Promega Maxwell / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA-ptAL03 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	2,51	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	21,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,01	46	18,4
2	4,98	50	20,1
3	5,04	58	23,0
4	5,05	53	21,0
5	4,96	47	19,0
6	5,00	55	22,0
7	4,96	60	24,2
8	5,03	57	22,7

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8
Freiheitsgrad	7
Mittelwert	53,2 Partikel
Standardabweichung	5,13 Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,45
Wahrscheinlichkeit	84 %
Wiederfindungsrate	98 %

Normalverteilung

Probenanzahl	8
Mittelwert	21,3 mg/kg
Standardabweichung	2,05 mg/kg
rel. Standardabweichung	9,63 %
Horwitz Standardabweichung	10,1 %
HorRat-Wert	1,0
Wiederfindungsrate	98 %

Microtracer Homogenitätstest

DLA-ptAL03 Dotierungsnivauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,50	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	27,5	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	59	23,6
2	5,05	45	17,8
3	5,00	60	24,0
4	5,05	53	21,0
5	4,99	44	17,6
6	4,97	57	22,9
7	5,02	64	25,5
8	5,05	55	21,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8
Freiheitsgrad	7
Mittelwert	54,6 Partikel
Standardabweichung	7,16 Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	6,57
Wahrscheinlichkeit	48 %
Wiederfindungsrate	79 %

Normalverteilung

Probenanzahl	8
Mittelwert	21,8 mg/kg
Standardabweichung	2,85 mg/kg
rel. Standardabweichung	13,1 %
Horwitz Standardabweichung	10,1 %
HorRat-Wert	1,3
Wiederfindungsrate	79 %

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL03 (2021)
EP-Name	Allergene III: β-Lactoglobulin, Casein und Gluten in hypoallergener Anfangsnahrung mit hydrolysiertem Milchprotein
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Säuglingsanfangsnahrung (Pulver) / Zutaten: Maltodextrin, pflanzliche Öle, Sojaproteinisolat, hydrolysiertes Molkenprotein, hydrolysiertes Casein, Vitamine, Mineralstoffe und weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel als Magermilchpulver und Weizenmehl (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: β -Lactoglobulin, Casein und Gluten (glutenhaltige Getreide) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A, B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	Spätestens 25. Juni 2021
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 / Alexandra Scharf MSc.

* 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
		ÖSTERREICH
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		CANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		FRANKREICH
		SPANIEN
		Deutschland
		ÖSTERREICH
		Deutschland
		POLEN
		SPANIEN
		Deutschland
		GRIECHENLAND

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

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

7. Verzeichnis relevanter Literatur

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

- Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices
JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
 25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
 30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
 31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
 32. ASU §64 LFGB L 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]
 33. 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]
 34. 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]
 35. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (Triticum L.) und Roggen (Secale cereale) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of wheat (Triticum L.) and rye (Secale cereale) 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. Durchführungsverordnung der Kommission/ Commission Implementing Regulation EU 828/2014; über die Anforderungen an die Bereitstellung von Informationen für Verbraucher über das Nichtvorhandensein oder das reduzierte Vorhandensein von Gluten in Lebensmitteln / on the requirements for the provision of information to consumers on the absence or reduced presence of gluten in food
 38. Köhler & Andersen (2014) Analyse von Glutengehalten in Getreide und getreidehaltigen Produkten, Tabellenwerk zum Nährstoffgehalt von Lebensmitteln 3.1.5.1, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie Leibniz Institut Jahresbericht 2014 [Analysis of gluten contents in cereals and cereal products, nutrient tables of foods]

DLA ptAL03 (2021) - Allergene III

20 von 21 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Milch (β -Lactoglobulin, Casein) und Weizen (Gluten) für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und PCR-Methoden (Gluten, 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 Auswertebereicht zu entnehmen.

10 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Frankreich, Italien, Österreich, Polen, Schweiz, Spanien) sowie ein Teilnehmer in Kanada.