



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL07 (2021)

Allergene VII:

Pistazien, Mollusken und Sellerie

in Instantnudelsuppe

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 11.03.2022:

In der Tabelle auf S. 21 wurde die qualitative Übereinstimmung der ELISA Ergebnisse für Teilnehmer 19 falsch angegeben. Dies wurde korrigiert.

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

<i>EP-Anbieter PT-Provider</i>	DLA - Proficiency Tests GmbH Hauptstr. 80, 23845 Oering, Germany Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc. Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer PT-Number</i>	DLA ptAL07 (2021)
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report (11. März 2022) 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.
<i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i>	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: 11. März 2022
<i>Unteraufträge Subcontractors</i>	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
<i>Vertraulichkeit Confidentiality</i>	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.
<i>Akkreditierung Accreditation</i>	nach / according to: ISO/IEC 17.043-2010 Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen Conformity Assessment - General Requirements for Proficiency Testing 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



Deutsche
Akkreditierungsstelle
D-EP-21534-01-00

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S*/opt.....	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Pistazien.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Pistazien.....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Pistazien.....	29
4.1.3 Ergebnisse anderer Methoden: Pistazien.....	32
4.2 Vergleichsuntersuchung Mollusken.....	33
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (als Gesamtprotein).....	33
4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (als Tropomyosin).....	40
4.2.3 PCR-Ergebnisse: Mollusken.....	46
4.2.4 Ergebnisse anderer Methoden: Mollusken.....	49
4.3 Vergleichsuntersuchung Sellerie.....	50
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie.....	50
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie.....	50
4.3.3 Ergebnisse anderer Methoden: Sellerie.....	54
4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	55
5. Dokumentation.....	57
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	57
5.1.1 ELISA: Pistazien.....	57
5.1.2 ELISA: Mollusken.....	58
5.1.3 PCR: Pistazien.....	59
5.1.4 PCR: Mollusken.....	60
5.1.5 PCR: Sellerie.....	61
5.1.6 Ergebnisse anderer Methoden: Pistazien.....	62
5.1.7 Ergebnisse anderer Methoden: Mollusken.....	62
5.1.8 Ergebnisse anderer Methoden: Sellerie.....	62
5.2 Homogenität.....	63
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	63
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	64
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	65
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	66

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (EP) 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 ein handelsübliches Instantsuppenpulver (Brokkolicremesuppe) mit einem Zusatz von Nudeln. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben der Rohstoffe wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Pistazien, Mollusken und Sellerie enthalten, wurden 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
Brokkoli-Nudelsuppe (Pulver) Zutaten: Glutenfreie Nudeln (40%), Maltodextrin, Palmfett, modifizierte Stärke, Glukosesirup, jodiertes Speisesalz, Reismehl, Hefeextrakt, 1,4 % Brokkoli, Lauch, Zwiebeln, Stabilisator Diphosphate, Spinat, Verdickungsmittel Xanthan, Knoblauch, Gewürze, Gemüsesaftkonzentrate (Karotte, Zwiebel), Aroma, Tomatenextrakt, Sonnenblumenöl, Liebstöckel	99,5 g/100 g	100 g/100 g	–
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	–	–	99,6 g/100 g
<i>Pistazien</i> unbehandelt, gemahlen – als Pistazien* – davon 21,7% Gesamtprotein**	34,7 mg/kg 7,54 mg/kg	–	32,0 mg/kg 6,96 mg/kg
<i>Mollusken Japanische Kammuschel, (Mizuhopecten yessoensis)</i> gefriergetrocknet – als Mollusken* – davon 75,7% Gesamtprotein**	68,9 mg/kg 52,2 mg/kg	–	72,1 mg/kg 54,6 mg/kg
<i>Sellerie (Sellerieblätter)</i> getrocknet und gemahlen – als Sellerie* – davon 14,2% Gesamtprotein**	69,6 mg/kg 9,88 mg/kg		71,7 mg/kg 10,2 mg/kg
weitere Zutaten: Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	<0,5 g/100 g	–	<0,5 g/100 g

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

** Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=5,30 für Pistazienprotein und F=6,25 für Muschelprotein und Sellerieprotein)

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe A und der Dotierungsniveauprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 49% bzw. 41% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von je 1,3 für diese LVU erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A

Durchführung der Homogenitätstests

Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Laboren 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 Laboren zur Analyse zugeschickt (Ausnahme: Morinaga Kit II von DLA durchgeführt). Die Einwaagen wurden mit einer Abweichung von $\pm 10\%$ von der Solleinwaage der Testkit-Anleitung vorgenommen und den Laboren nicht mitgeteilt. Nach Übersendung der Analysenergebnisse 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 A in allen ELISA-Tests für Mollusken und Pistazie (Immunolab und AgraQuant) erfüllt (s. Seite 7). Die Anforderung an Wiederholstandardabweichungen von ELISA- und PCR-Verfahren ist üblicherweise $\leq 25\%$ [18, 19, 22, 23].

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

ELISA-Tests: Homogenität Mollusken / Homogeneity Molluscs**Immunolab Molluscs ELISA**

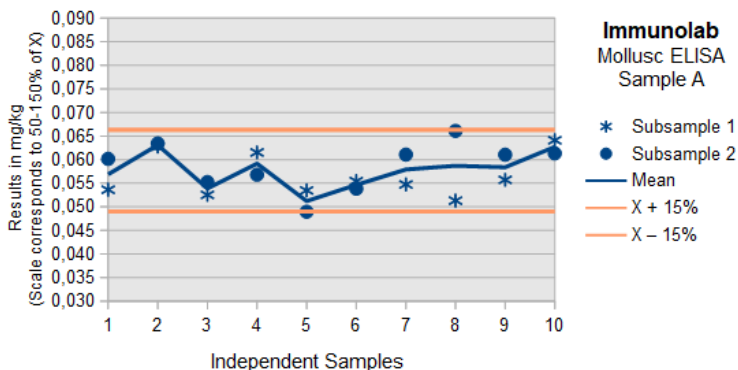
Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)

Number of replicates: 2

Overall result: Tropomyosin $0,0577 \pm 0,0030$ mg/kg

Sample A	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	0,0536	0,0602	0,0569
2	0,0627	0,0634	0,0631
3	0,0525	0,0552	0,0539
4	0,0615	0,0568	0,0592
5	0,0535	0,0490	0,0512
6	0,0554	0,0538	0,0546
7	0,0547	0,0611	0,0579
8	0,0513	0,0661	0,0587
9	0,0557	0,0610	0,0584
10	0,0641	0,0613	0,0627

General average X	0,0577	
SD of sample means Sx	0,0037	6,4%
SD within-samples Sw	0,0031	5,4%
SD between-samples Ss	0,0030	5,2%

**AgraQuant Mollusk ELISA**

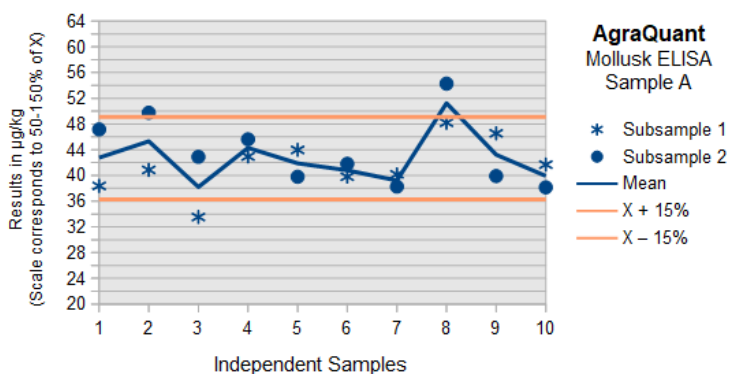
Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)

Number of replicates: 2

Overall result: Tropomyosin $42,7 \pm 3,1$ µg/kg

Sample A	Subsample 1 µg/kg	Subsample 2 µg/kg	Mean µg/kg
1	38,4	47,2	42,8
2	40,9	49,8	45,3
3	33,5	42,9	38,2
4	42,9	45,6	44,3
5	44,0	39,8	41,9
6	39,8	41,8	40,8
7	40,2	38,3	39,2
8	48,2	54,3	51,2
9	46,5	39,9	43,2
10	41,7	38,2	39,9

General average X	42,7	
SD of sample means Sx	3,75	8,8%
SD within-samples Sw	3,04	7,1%
SD between-samples Ss	3,08	7,2%



ELISA-Tests: Homogenität Pistazie / Homogeneity Pistachio**Immunolab Pistachio ELISA**

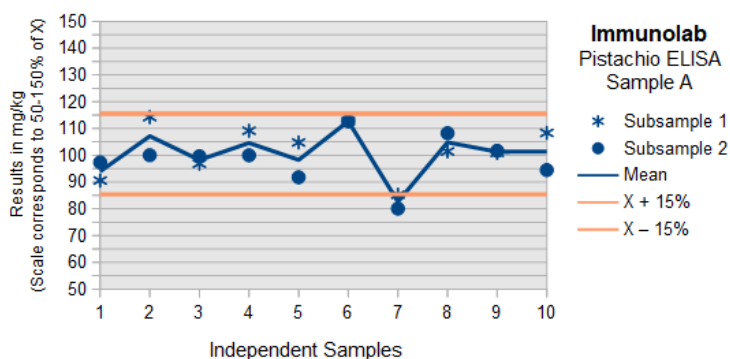
Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)

Number of replicates: 2

Overall result: Pistachio 101 ± 7,6 mg/kg

Sample A	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	90,6	97,4	94,0
2	114	100	107
3	96,8	100	98,2
4	109	100	105
5	105	91,8	98,3
6	113	113	113
7	85,3	80,1	82,7
8	101	108	105
9	101	102	101
10	108	94,5	101

General average X	101	
SD of sample means Sx	8,17	8,1%
SD within-samples Sw	4,41	4,4%
SD between-samples Ss	7,56	7,5%

**AgraQuant Pistachio ELISA**

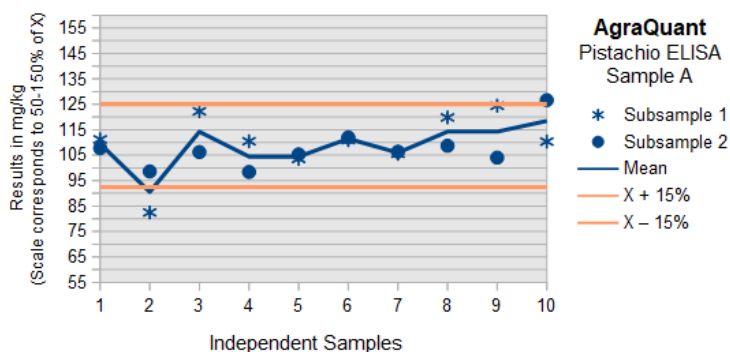
Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)

Number of replicates: 2

Overall result: Pistachio 109 ± 6,7 mg/kg

Sample A	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	111	108	109
2	82,5	98,6	90,5
3	122	106	114
4	110	98	104
5	104	105	104
6	111	112	111
7	106	106	106
8	120	109	114
9	124	104	114
10	110	127	118

General average X	109	
SD of sample means Sx	7,96	7,3%
SD within-samples Sw	6,10	5,6%
SD between-samples Ss	6,69	6,1%



2.1.2 Stabilität

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

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,40 - 0,49$ ($19-20^\circ\text{C}$). Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurde in der 44. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 07. Januar 2022 (verlängert).

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

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

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Alle 19 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis abgegeben.

3. Auswertung

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

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

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

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

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

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

3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern

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

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

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 – 42% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

Tabelle 2b: PCR-Methoden – Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [32–36]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Paranuss	Reiskekse	89,1 17,3 9,8	89,1 % 86,5 % 98 %	–	34,1% 36,2% 40,2%	34,4% 38,2% 41,8%	24,5% 28,4% 30,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	80,8 42,6	65,7 % 42,6 %	–	25,6% 27,5%	36,4% 39,7%	31,6% 34,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Reiskekse	96,6 14,2	96,6 % 71 %	–	16,8% 54,2%	31,8% 56,5%	29,5% 41,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	76,5 48,4	62,2 % 48,4 %	–	15,6% 34,4%	35,8% 37,5%	34,1% 28,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Sellerie- samen	Brühwurst (100°C, 60min)	98,1 45,5	98,1 % 114 %	– –	12,6% 27,9%	20,7% 34,7%	18,7% 28,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sellerie- samen	Wurst, autoklaviert	10,5	10,5 %	–	25,8%	39,4%	34,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
Soja	Weizenmehl Maismehl	107 145	107 % 145 %	63 % 34 %	– –	31 % 24 %	– –	rt-PCR ASU 16.01-9
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	114,1 64,4	114 % 161 %	–	14,7% 27,7%	22,2% 41,4%	19,6% 36,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
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 39,6 19,6 9,3	82 % 99 % 98 % 93 %	–	17,3% 22,9% 22,9% 31,1%	24,1% 31,8% 24,0% 30,2%	20,8% 27,4% 17,7% –	rt-PCR ASU 08.00-59

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	$\pm 25\%$ ^(a)	$\leq 25\%$	$\leq 35\%$

(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, der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU und anderen Faktoren 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. Ein Teilnehmer hat Ergebnisse mittels NGS-Methode (Next Generation Sequencing) übermittelt. Die Auswertung erfolgte separat.

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 werden anschließend behandelt.

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

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

Die ELISA-Ergebnisse, die als **Pistazienprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe (s. Seite 5) auf das **Gesamtlebensmittel (Pistazien)** umgerechnet worden.

Die ELISA-Ergebnisse für Mollusken, die als **Tropomyosin** angegeben wurden, sind auf den **Proteingehalt des Lebensmittels (Jap. Kammuschel)** umgerechnet worden. Dafür wurden die Tropomyosin-Gehalte zunächst auf das Nassgewicht von Jakobsmuschel, roh (mit dem Faktor gemäß Manual der Testkit-Hersteller AgraQuant, SensiSpec) und dann unter Berücksichtigung eines Wassergehalts von 80% in Trockengewicht/Kammuschel-Pulver umgerechnet. Anschließend folgte mittels des experimentell bestimmten Proteingehalts der Rohstoffe die Umrechnung in Gesamtprotein der Mollusken/Kammuscheln (s. Seite 5).

Zusätzlich erfolgte eine separate Auswertung für die als Tropomyosin angegebenen Ergebnisse ohne Umrechnung (nur quantitativ).

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_{ptALL}	z-Score X_{ptMi}	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_{ptALL}	$X_{ptMETHOD i}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Mittelwert		
Median		
Robuster Mittelwert (X_{pt})		
Robuste Standardabweichung (S^*)		
Zielkenndaten ^o :		
Zielstandardabweichung σ_{pt} bzw. σ_{pt}'		
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}'$) ^o		
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}'$) ^o		
Quotient S^*/σ_{pt} bzw. S^*/σ_{pt}'		
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Pistazien

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Pistazien

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswerte- nummer	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	21,0	negativ	<4,61	2/2 (100%)	3M	Ergebnis umgerechnet °
6	positiv	75,6	negativ	<BG	2/2 (100%)	AQ	
12	positiv	113	negativ	<NWG	2/2 (100%)	AQ	
16	negativ	<1	negativ	<1	1/2 (50%)	AQ	keine Positivprobe identifiziert
10	positiv	359	negativ	<4,61	2/2 (100%)	AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
13	positiv	77,4	negativ	<1	2/2 (100%)	BC	
5	positiv	>184	negativ	<4,61	2/2 (100%)	BF	Ergebnis umgerechnet °
19	positiv	54,0	negativ	ND	2/2 (100%)	BF	
14	positiv		negativ		2/2 (100%)	IL	
18	positiv	87,0	negativ	<BG	2/2 (100%)	IL	
17	positiv	95,0	negativ	<BG	2/2 (100%)	SP	

° Umrechnung S. 19

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	10		0	
Anzahl negativ	1		11	
Prozent positiv	91		0	
Prozent negativ	9		100	
Konsenswert	positiv		negativ	

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A. Es wurde ein negatives Ergebnis für Probe A erhalten.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswerte- nummer	Pistazien	z-Score X_{ptALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
2	21,0	-2,9	3M	Ergebnis umgerechnet °
6	75,6	-0,02	AQ	
12	113	2,0	AQ	
16	<1		AQ	
10	359		AQ-P	Ausreißer / Ergebnis umgerechnet °
13	77,4	0,08	BC	
5	>184		BF	Ergebnis umgerechnet °
19	54,0	-1,2	BF	
14			IL	
18	87,0	0,58	IL	
17	95,0	1,0	SP	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

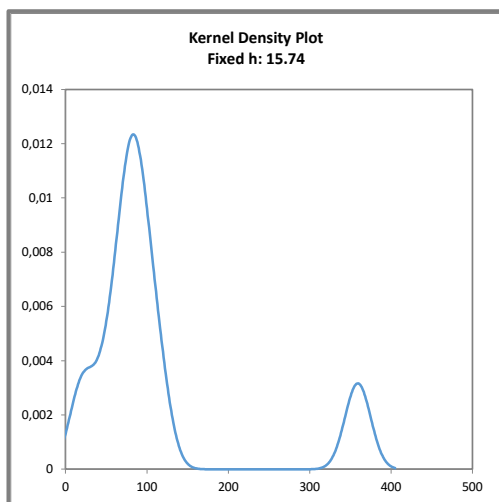
AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

**Abb. / Fig. 1:**

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter bei etwa < 30 mg/kg (niedriger Einzelwert, Methode 3M) und einem Nebenpeak bei 359 mg/kg, der auf einen Ausreißer (Methode AQ-P) zurückgeht.

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	7°
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	74,7
Median	77,4
Robuster Mittelwert (X_{pt})	75,9
Robuste Standardabweichung (S^*)	31,1
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	19,0
Untere Grenze des Zielbereichs	37,9
Obere Grenze des Zielbereichs	114
Quotient S^*/σ_{pt}	1,6
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	14,7
Ergebnisse im Zielbereich	6
Prozent im Zielbereich	86

° ohne Ausreißer Nr. 10 (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede. Ein Ausreißer wurde vorab ausgeschlossen.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsverfahren (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 219% vom Zusatzniveau von Pistazien zu Probe A oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.28 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Pistazien").

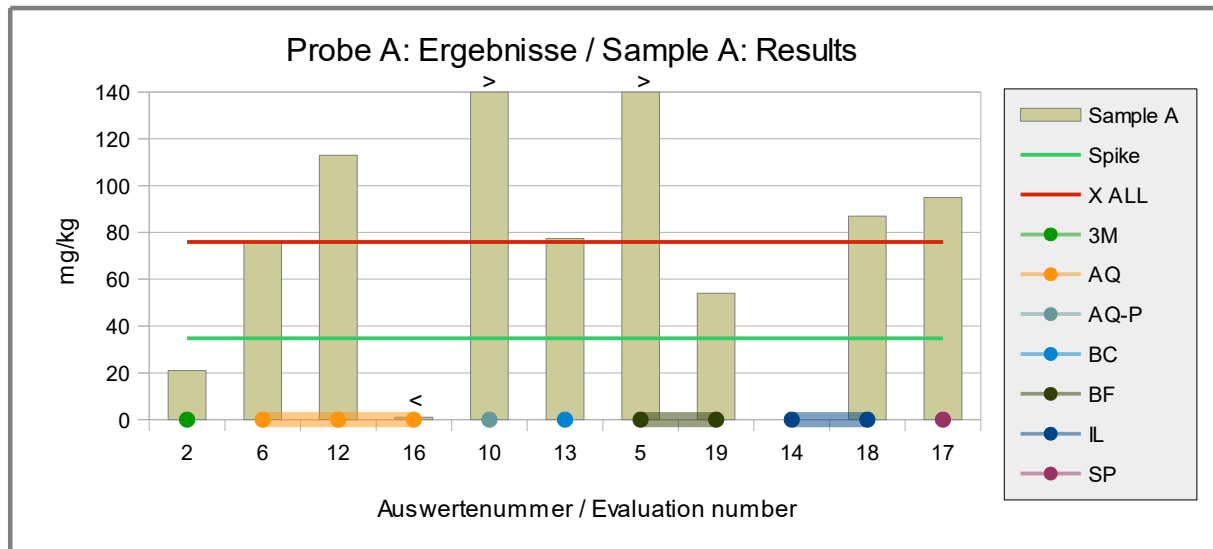


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Pistazien
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

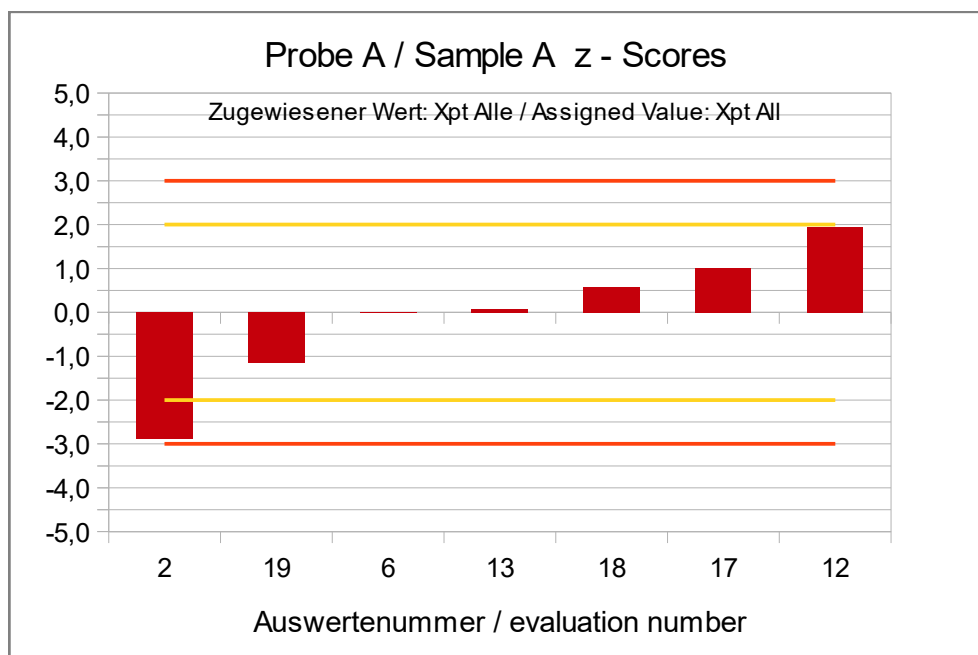


Abb./Fig. 3:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Pistazien)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswerte- nummer	Pistazien	z-Score X_{ptALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
2	16,1	-3,1	3M	Ergebnis umgerechnet °
6	65,8	-0,18	AQ	
12	143	4,3	AQ	
16	<1		AQ	
10	314		AQ-P	Ausreißer / Ergebnis umgerechnet °
13	67,3	-0,10	BC	
5	>184		BF	Ergebnis umgerechnet °
19	56,0	-0,75	BF	
14			IL	
18	63,5	-0,32	IL	
17	89,0	1,2	SP	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

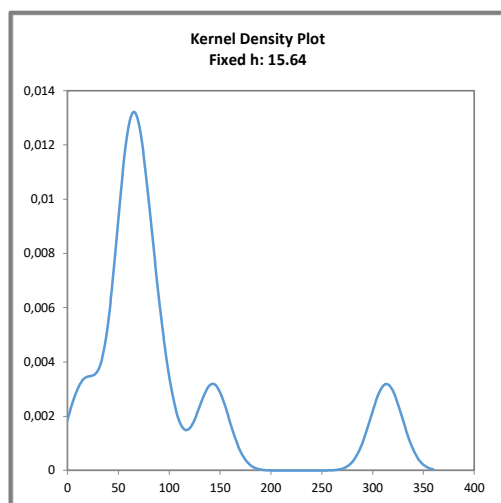
AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

**Abb. / Fig. 4:**

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit 3 Nebenpeaks bei ca. 16 mg/kg (Methode 3M), bei 143 mg/kg (Methode AQ) und bei 314 mg/kg (Methode AQ-P), die auf 2 Einzelwerte außerhalb des Zielbereichs und einen Ausreißer zurückgehen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Pistazien**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	7°
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	71,5
Median	65,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	69,0
Robuste Standardabweichung (S^*)	37,5
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	17,2
Untere Grenze des Zielbereichs	34,5
Obere Grenze des Zielbereichs	103
Quotient S^*/σ_{pt}	2,2
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	17,7
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	71

° ohne Ausreißer Nr. 10 (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede. Ein Ausreißer wurde vorab ausgeschlossen.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine leicht erhöhte Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag über 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt 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.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 216% vom Zusatzniveau von Pistazien zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.28 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Pistazien").

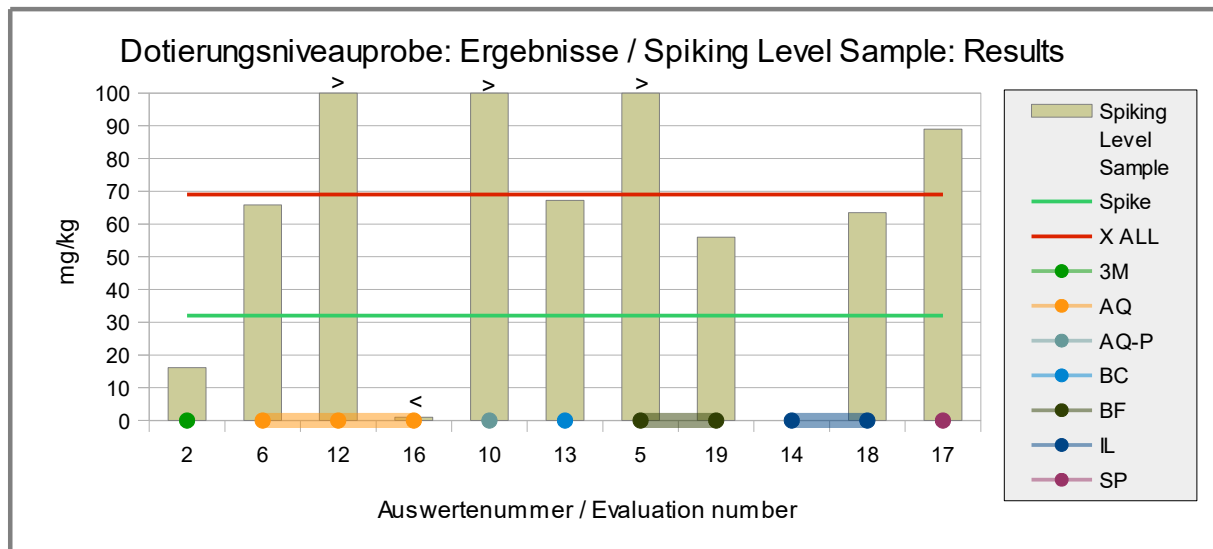


Abb./Fig. 5: ELISA-Ergebnisse Pistazien
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

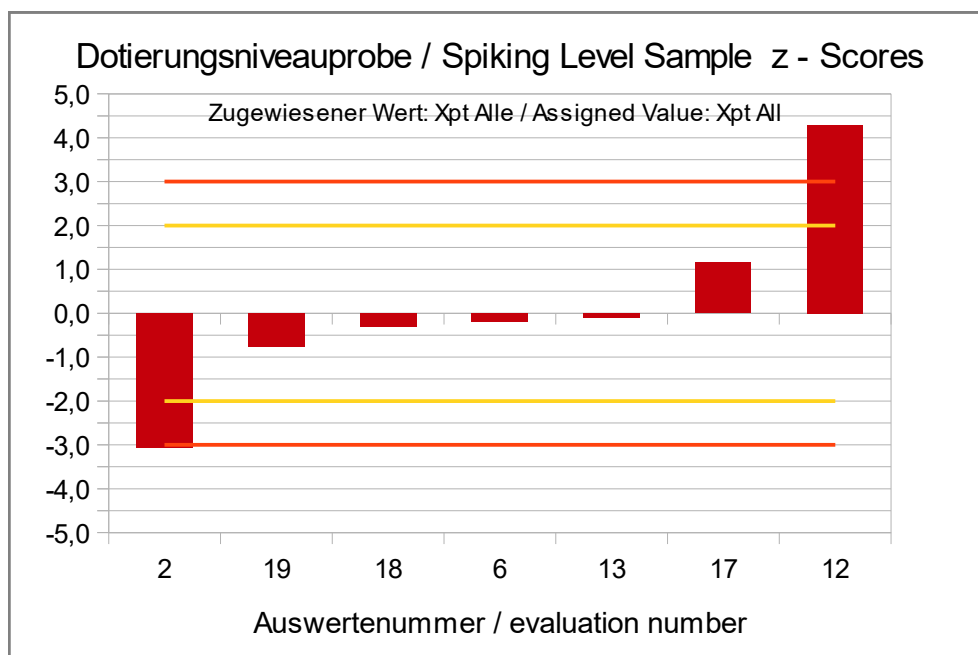


Abb./Fig. 6:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Pistazien)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Pistazien: Dotierungsniveauprobe und Probe A

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
2	16,1	50,4	-2,0	21,0	60,5	-1,6	3M	Ergebnis umgerechnet °
6	65,8	206	4,2	75,6	218	4,7	AQ	
12	143	447	14	113	326	9,0	AQ	
16	<1			<1			AQ	
10	314	980	35	359	1035	37	AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
13	67,3	210	4,4	77,4	223	4,9	BC	
5	>184			>184			BF	Ergebnis umgerechnet °
19	56,0	175	3,0	54,0	156	2,2	BF	
14							IL	
18	63,5	198	3,9	87,0	251	6,0	IL	
17	89,0	278	7,1	95,0	274	7,0	SP	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	1
Prozent im AB	13	Prozent im AB	13

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Ein Teilnehmer (13%) hat mit der Dotierungsniveauprobe sowie mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

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

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Pistazien

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		
8	positiv		negativ		2/2 (100%)	BS	
7	positiv		negativ		2/2 (100%)	GR	
3	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
10	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
13	positiv	74,3	negativ	<1	2/2 (100%)	SFA	
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
1	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
14	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	9		0	
Anzahl negativ	0		9	
Prozent positiv	100		0	
Prozent negativ	0		100	
Konsenswert	positiv		negativ	

Methoden:

BS = qualyfast allergen, BIOSIDE

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

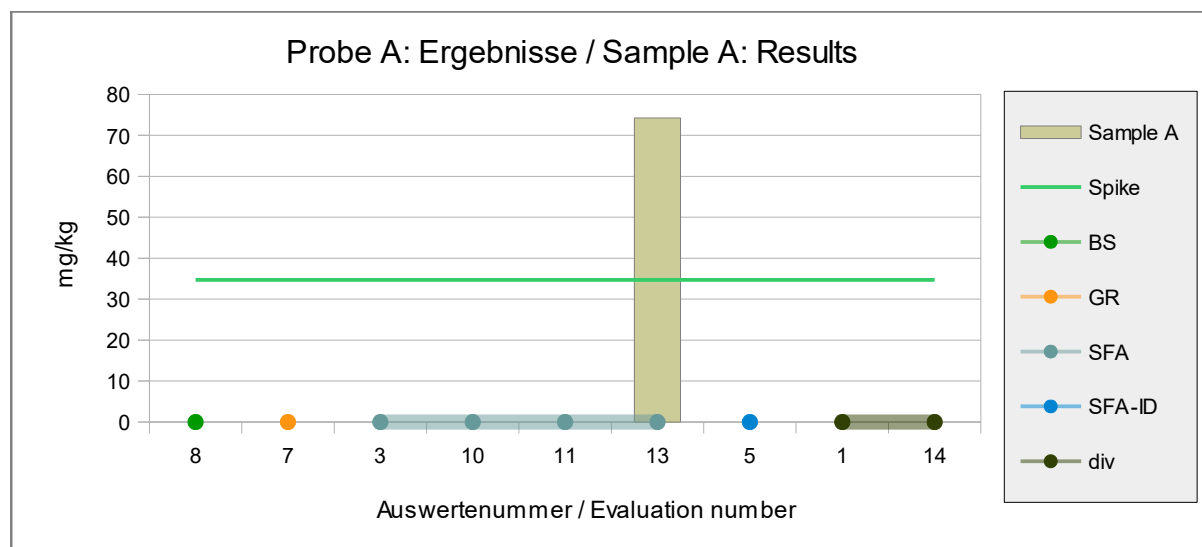


Abb./Fig. 7: PCR-Ergebnisse Pistazien

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Pistazien pos/neg	Pistazien [mg/kg]	z-Score X_{pt_ALL}	Methode	Hinweis
8	positiv			BS	
7	-			GR	
3	positiv			SFA	
10	positiv			SFA	
11	positiv			SFA	
13	positiv	98,0		SFA	
5	positiv			SFA-ID	
1	positiv			div	
14	positiv	0,00800		div	

Anzahl positiv	8	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

BS = qualyfast allergen, BIOSIDE

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

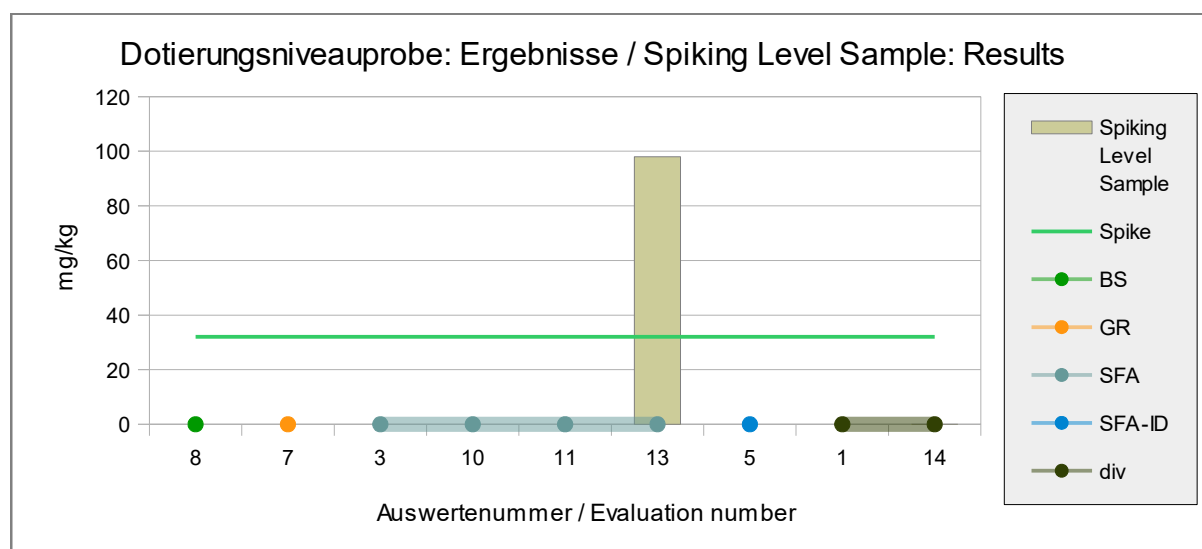


Abb./Fig. 8: PCR-Ergebnisse Pistazien
grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Pistazien:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
8							BS	
7							GR	
3							SFA	
10							SFA	
11							SFA	
13	98,0	306	8,2	74,3	214	4,6	SFA	
5							SFA-ID	
1							div	
14	0,00800	0,02	-4,0				div	

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

BS = qualyfast allergen, BIOSIDE

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Kein Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe oder mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

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

4.1.3 Ergebnisse anderer Methoden: Pistazien**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
15	negativ		negativ		-	NGS	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	0		0	
Anzahl negativ	1		1	
Prozent positiv	0		0	
Prozent negativ	100		100	
Konsenswert	-		-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

Es wurde für beide LVU-Proben A und B ein negatives Ergebnis erhalten. Die Dotierung von Probe A wurde nicht erkannt.

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Pistazien	Pistazien	z-Score X_{pt_ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
15	positiv			NGS	

Anzahl positiv	1	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurde ein positives Ergebnis erhalten.

Quantitative Auswertung anderer Ergebnisse:
Probe A und Dotierungsniveauprobe

Da keine quantitativen Ergebnisse vorlagen, erfolgte keine quantitative Auswertung.

4.2 Vergleichsuntersuchung Mollusken

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (als Gesamtprotein)

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	24,5	negativ	<1	2/2 (100%)	3M	
12	positiv	25,0	negativ	<NWG	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
16	positiv	29,4	negativ	<7,34	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
1	positiv	<22,0	negativ	<22,0	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
4	positiv	36,7	negativ	0	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
17	positiv	52,9	negativ	<BG	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

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

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Mollusken-Protein	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
2	24,5	-0,67	3M	
12	25,0	-0,60	AQ	Ergebnis umgerechnet °
16	29,4	0,00	AQ	Ergebnis umgerechnet °
1	<22,0		SP	Ergebnis umgerechnet °
4	36,7	1,0	SP	Ergebnis umgerechnet °
17	52,9	3,2	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl an < 8 Ergebnissen nicht durchgeführt.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mollusken (als Protein)**Probe A**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	33,7
Robuster Mittelwert	33,7
Median (X_{pt})	29,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,4
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	7,34
Untere Grenze des Zielbereichs	14,7
Obere Grenze des Zielbereichs	44,1
Quotient S^*/σ_{pt}	1,8
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	7,48
Ergebnisse im Zielbereich	4
Prozent im Zielbereich	80

Bezugswert (X_{pt}): Median (vgl. 3.1)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsverfahren (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 Median der Auswertung lag mit 56% vom Zusatzniveau von Mollusken-Protein zu Probe A innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.39 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mollusken (als Protein)").

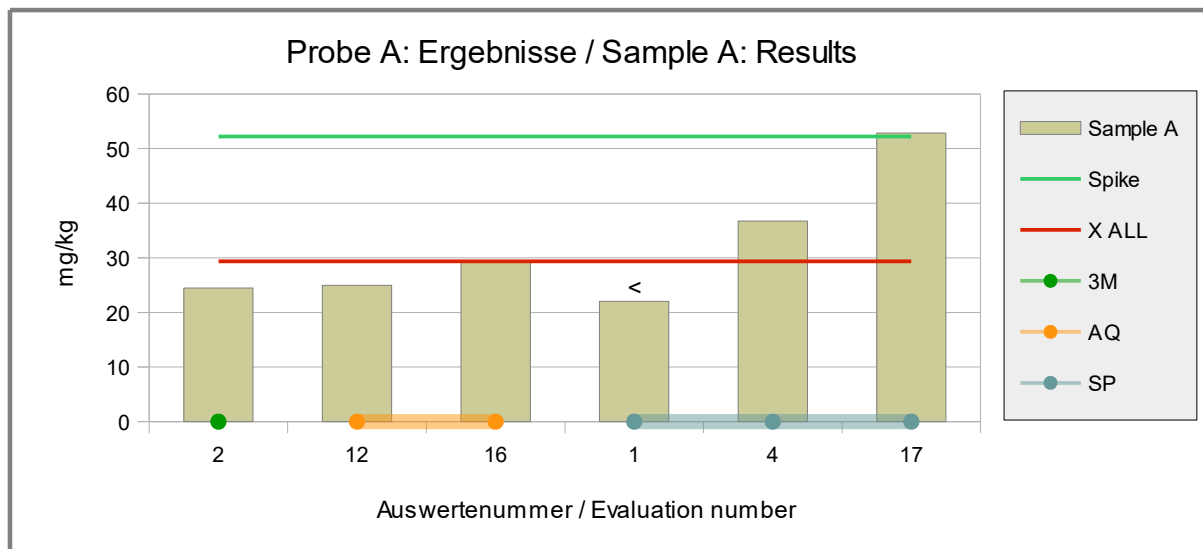


Abb./Fig. 9: ELISA-Ergebnisse Mollusken (als Protein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Median aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

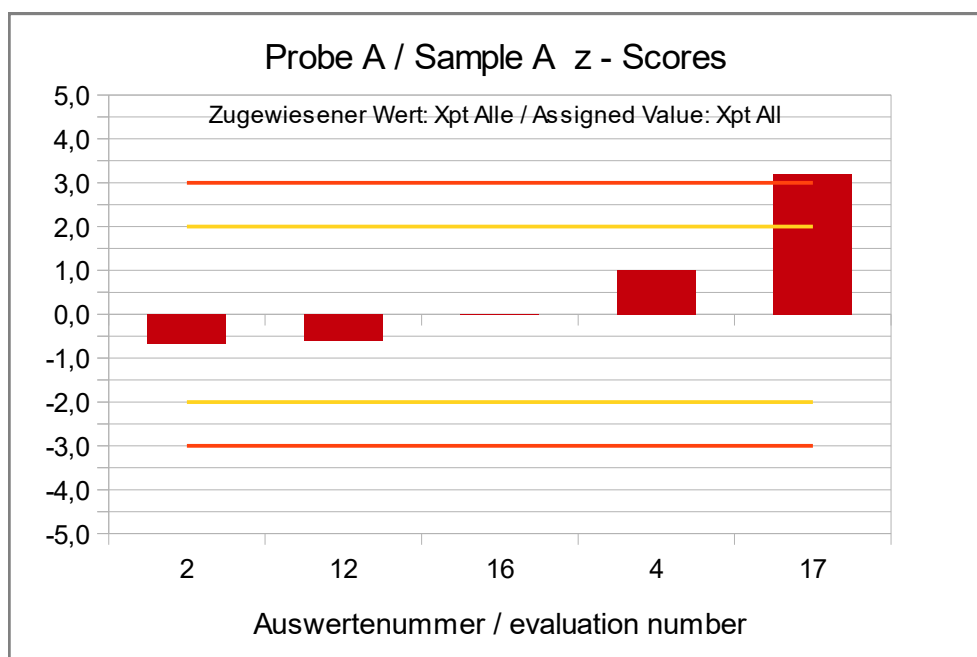


Abb./Fig. 10:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Mollusken-Protein)
 Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswerte- nummer	Mollusken- Protein	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
2	35,9	-0,53	3M	
12	40,4	-0,09	AQ	Ergebnis umgerechnet °
16	36,7	-0,45	AQ	Ergebnis umgerechnet °
1	23,5	-1,7	SP	Ergebnis umgerechnet °
4	47,0	0,55	SP	Ergebnis umgerechnet °
17	88,1	4,5	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl an < 8 Ergebnissen nicht durchgeführt.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mollusken (als Protein)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	6
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	45,3
Median	38,6
Robuster Mittelwert (X_{pt})	41,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	15,6
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	10,3
Untere Grenze des Zielbereichs	20,7
Obere Grenze des Zielbereichs	62,0
Quotient S^*/σ_{pt}	1,5
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	7,96
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	83

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 76% vom Zusatzniveau von Mollusken-Protein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.39 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mollusken (als Protein)").

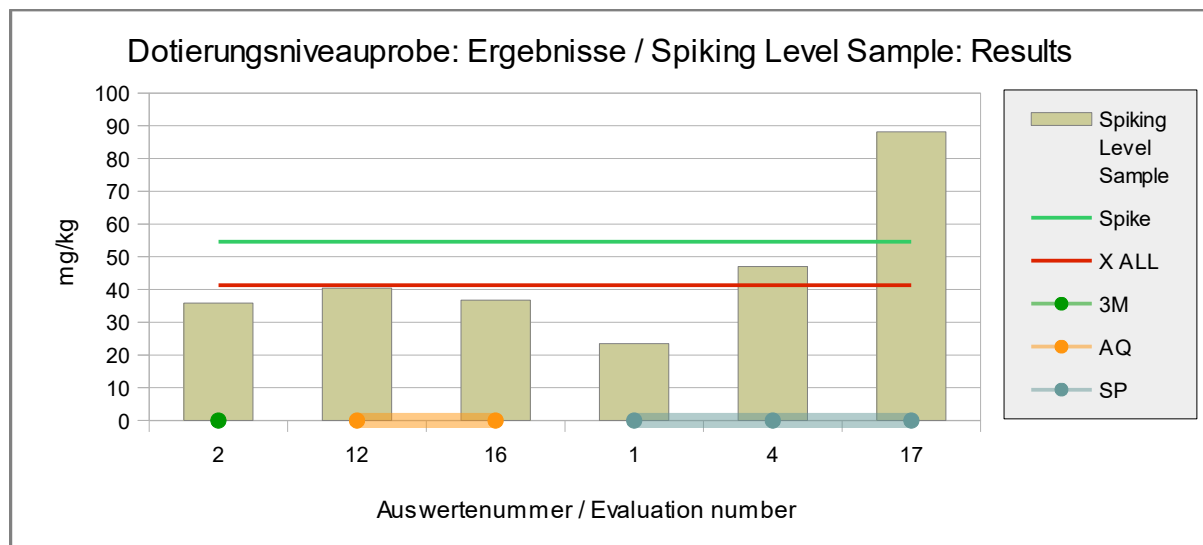


Abb./Fig. 11: ELISA-Ergebnisse Mollusken (als Protein)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

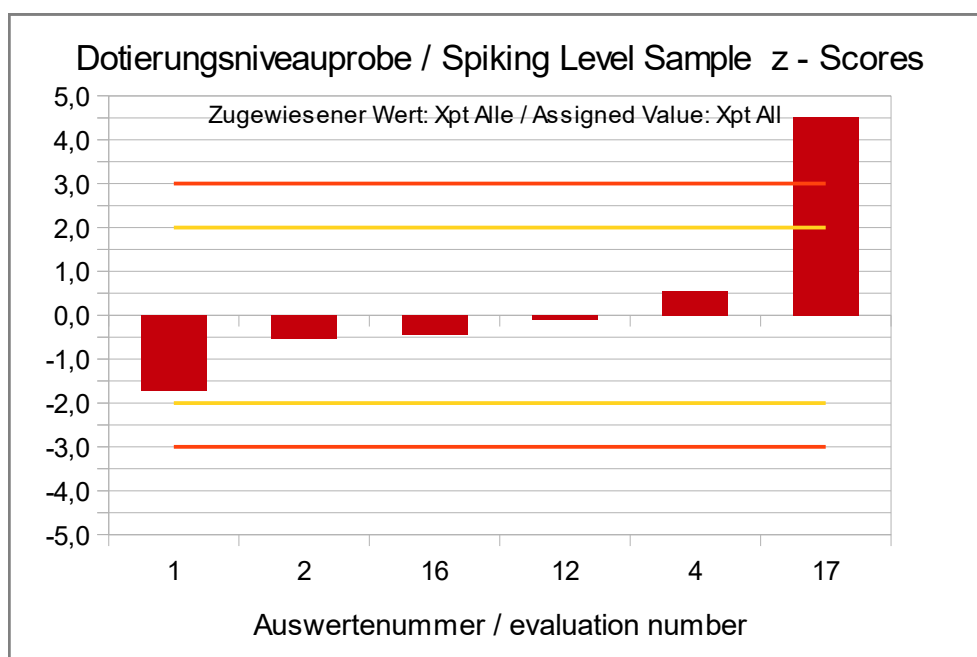


Abb./Fig. 12:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Mollusken-Protein)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Mollusken(als Protein) : Dotierungsniveauprobe und Probe A

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
2	35,9	65,7	-1,4	24,5	46,9	-2,1	3M	
12	40,4	74,0	-1,0	25,0	47,8	-2,1	AQ	Ergebnis umgerechnet °
16	36,7	67,2	-1,3	29,4	56,3	-1,7	AQ	Ergebnis umgerechnet °
1	23,5	43,0	-2,3	<22,0			SP	Ergebnis umgerechnet °
4	47,0	86,1	-0,56	36,7	70,3	-1,2	SP	Ergebnis umgerechnet °
17	88,1	161	2,5	52,9	101	0,05	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	4	Anzahl im AB	3
Prozent im AB	67	Prozent im AB	60

Methoden:

3M = 3M Protein ELISA Kit

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

67% (4) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 60% (3) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

Hinweis: In Bezug auf die Wiederfindungsraten von ELISA-Methoden zur Bestimmung von Mollusken müssen für einige Methoden spezielle Umrechnungsfaktoren für bestimmte Mollusken-Arten berücksichtigt werden (Methoden: AQ, SP). Im vorliegenden Abschnitt wurde für die Bestimmung von Japanischer Kammuschel, die in den PT-Proben enthalten ist, der Umrechnungsfaktor für rohe Jakobsmuscheln als beste Näherung verwendet, da für Kammuscheln kein Faktor vorliegt (vgl. S.19).

4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Mollusken (als Tropomyosin)**Quantitative Auswertung ELISA: Probe A**

Die nachstehende Auswertung erfolgte aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen rein informativ.

Auswerte- nummer	Mollusken- Tropomyosin	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
12	0,0340	-0,98	AQ	
16	0,0400	-0,44	AQ	
1	<0,03		SP	
4	0,0500	0,44	SP	
17	0,0720	2,4	SP	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl an < 8 Ergebnissen nicht durchgeführt.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mollusken (Tropomyosin)**Probe A**

Die nachstehende Auswertung erfolgte rein informativ.

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}^{ALL}
Anzahl der Messergebnisse	4
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	0,0490
Robuster Mittelwert	0,0490
Median (X_{pt})	0,0450
Robuste Standardabweichung (S^*)	0,0189
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	0,0113
Untere Grenze des Zielbereichs	0,0225
Obere Grenze des Zielbereichs	0,0675
Quotient S^*/σ_{pt}	1,7
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,0118
Ergebnisse im Zielbereich	3
Prozent im Zielbereich	75

Bezugswert (X_{pt}): Median (vgl. 3.1)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der Tropomyosin-Gehalt in Probe A ist nicht bekannt, sodass keine Wiederfindungsrate angegeben werden kann.

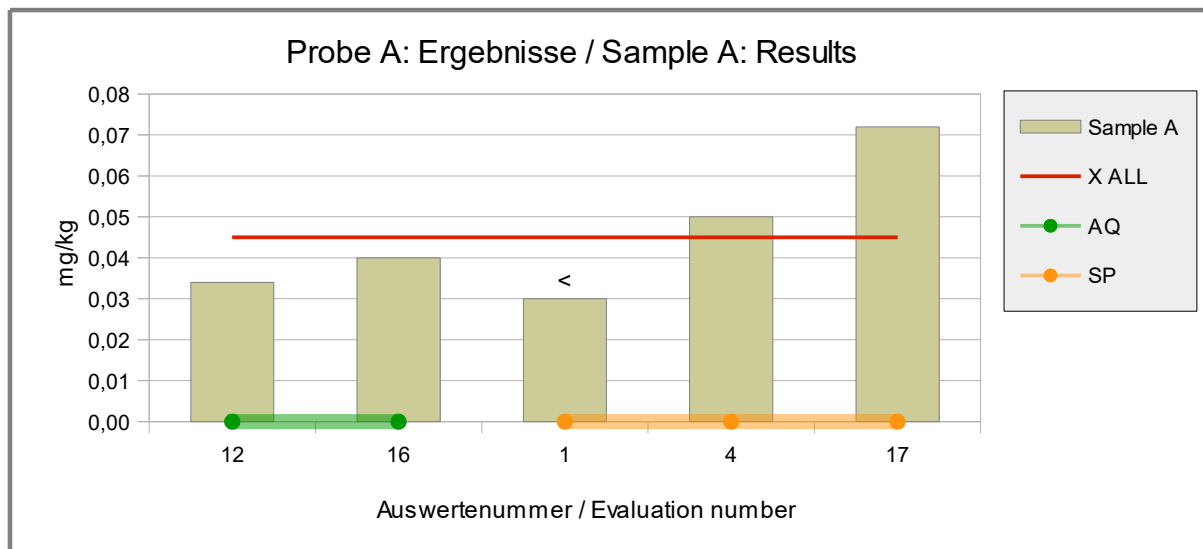


Abb./Fig. 13: ELISA-Ergebnisse Mollusken (als Tropomyosin)
rote Linie = Median aller Ergebnisse
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

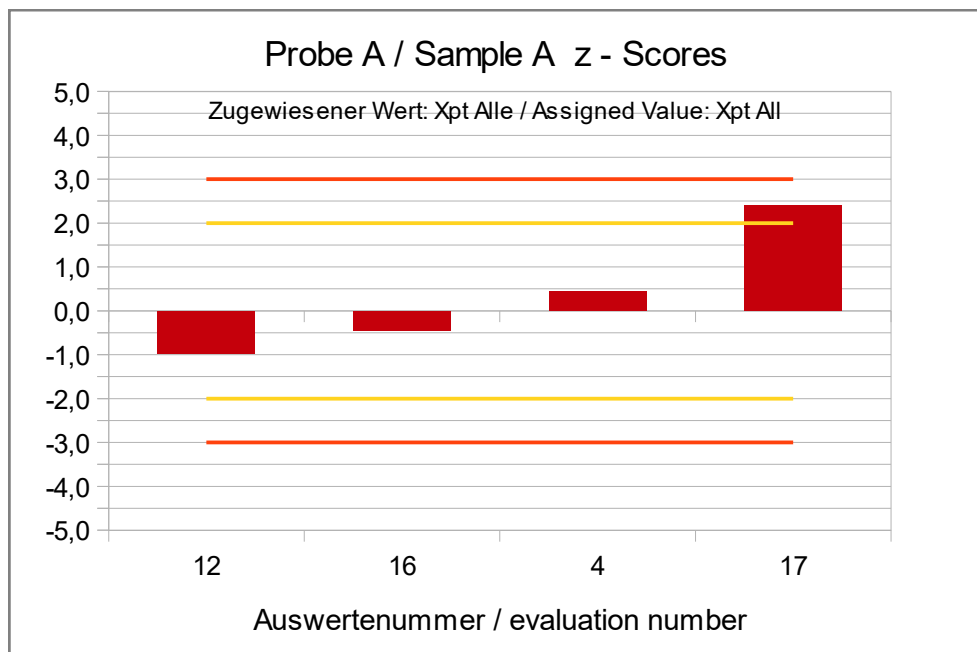


Abb./Fig. 14:
z-Scores informativ (ELISA-Ergebnisse als Mollusken-Tropomyosin)
Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswerte- nummer	Mollusken- Tropomyosin	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]			
12	0,0550	0,00	AQ	
16	0,0500	-0,36	AQ	
1	0,0320	-1,7	SP	
4	0,0640	0,65	SP	
17	0,120	4,7	SP	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Eine Kerndichte-Schätzung wurde aufgrund der Anzahl an < 8 Ergebnissen nicht durchgeführt.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Mollusken (Tropomyosin)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	0,0642
Robuster Mittelwert	0,0617
Median (X_{pt})	0,0550
Robuste Standardabweichung (S^*)	0,0319
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	0,0138
Untere Grenze des Zielbereichs	0,0275
Obere Grenze des Zielbereichs	0,0825
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	<i>2,3</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>0,0179</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>4</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>80</i>

Bezugswert (X_{pt}): Median (vgl. 3.1)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine erhöhte Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag über 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt 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.

Der Tropomyosin-Gehalt in der Dotierungsniveauprobe ist nicht bekannt, sodass keine Wiederfindungsrate angegeben werden kann.

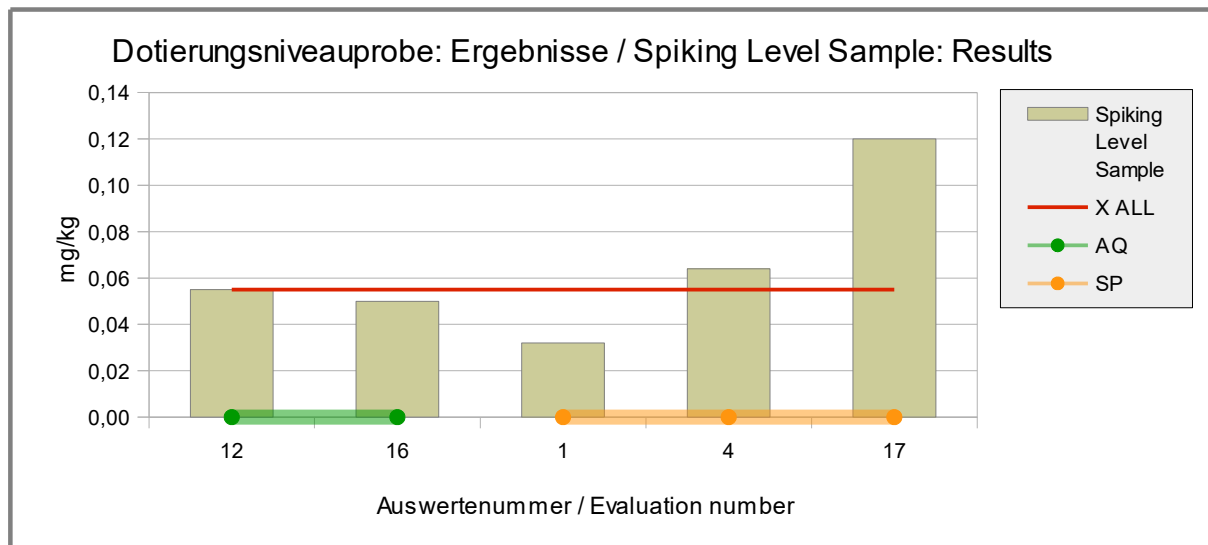


Abb./Fig. 15: ELISA-Ergebnisse Mollusken (als Tropomyosin)
rote Linie = Median aller Ergebnisse
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

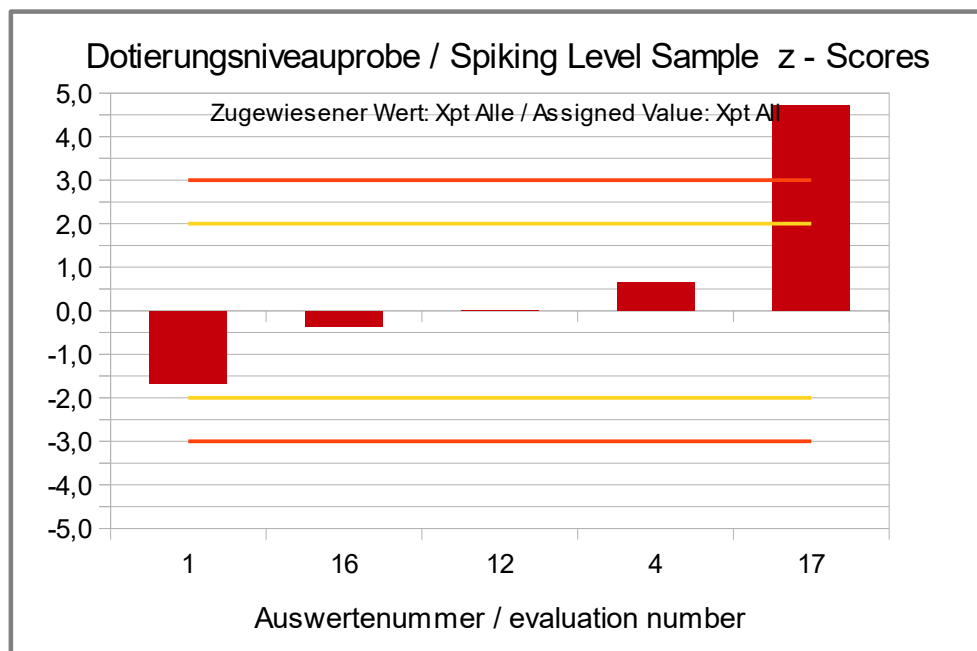


Abb./Fig. 16:
z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Mollusken-Tropomyosin)
Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse

4.2.3 PCR-Ergebnisse: Mollusken

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
3	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
13	positiv	106	negativ	<1	2/2 (100%)	SFA	
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	5		0	
Anzahl negativ	0		5	
Prozent positiv	100		0	
Prozent negativ	0		100	
Konsenswert	positiv		negativ	

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

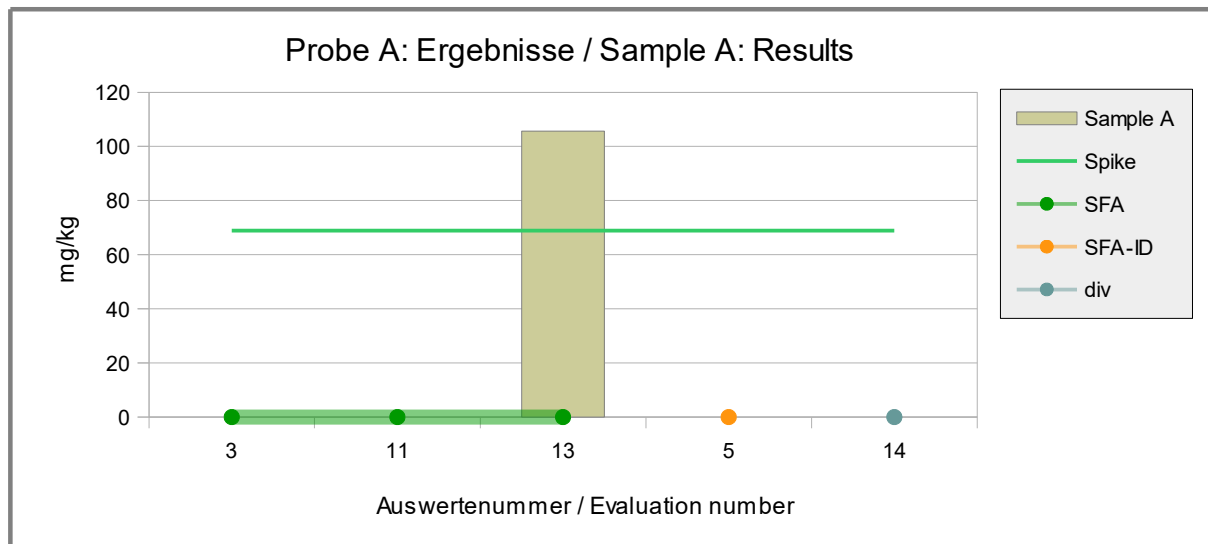


Abb./Fig. 17: PCR-Ergebnisse Mollusken

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Mollusken	Mollusken	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
3	positiv			SFA	
11	positiv			SFA	
13	positiv	150		SFA	
5	positiv			SFA-ID	
14	positiv	0,0800		div	

Anzahl positiv	5	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

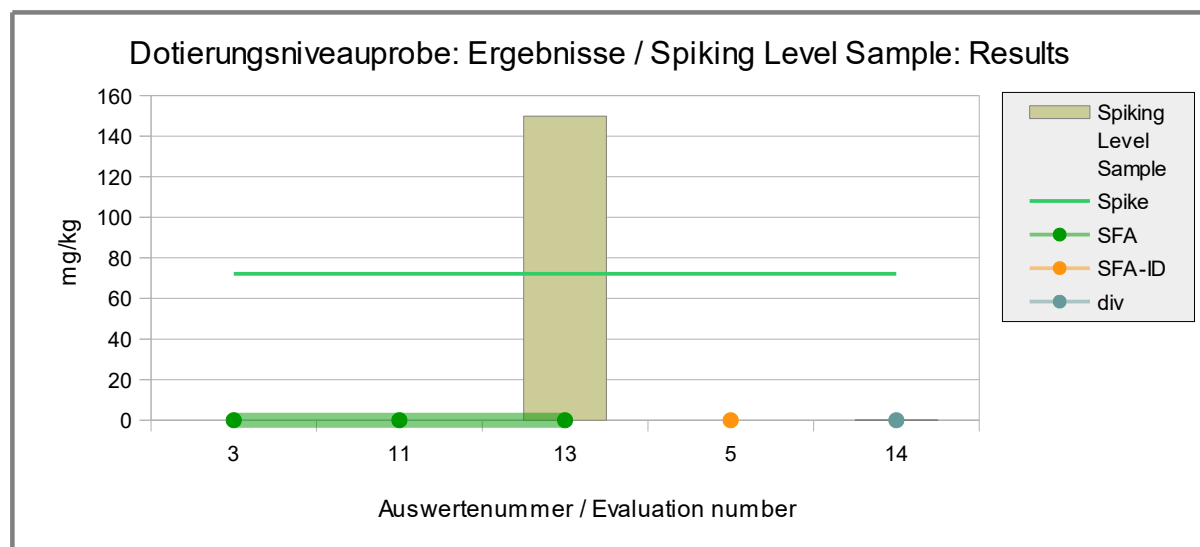


Abb./Fig. 18: PCR-Ergebnisse Mollusken
grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Mollusken:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
3							SFA	
11							SFA	
13	150	208	4,3	106	153	2,1	SFA	
5							SFA-ID	
14	0,0800	0,11	-4,0				div	

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

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Kein Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe oder mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

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

4.2.4 Ergebnisse anderer Methoden: Mollusken**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
15	positiv		negativ		-	NGS	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	1		0	
Anzahl negativ	0		1	
Prozent positiv	100		0	
Prozent negativ	0		100	
Konsenswert	-		-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Mollusken	Mollusken	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
15	positiv			NGS	

Anzahl positiv	1	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurde ein positives Ergebnis erhalten.

Quantitative Auswertung anderer Ergebnisse: Probe A und Dotierungsniveauprobe

Da keine quantitativen Ergebnisse vorlagen, erfolgte keine quantitative Auswertung.

4.3 Vergleichsuntersuchung Sellerie

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie

Es wurden keine ELISA-Ergebnisse für den Parameter Sellerie eingereicht.

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie

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		
1	positiv		negativ		2/2 (100%)	ASU	
6	positiv		negativ		2/2 (100%)	ASU	
18	positiv	20,3	negativ	<NWG	2/2 (100%)	FP	
7	positiv		negativ		2/2 (100%)	GR	
8	negativ		negativ		1/2 (50%)	GR	keine Positivprobe identifiziert
3	positiv		positiv		1/2 (50%)	SFA	
9	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
13	positiv	90,0	negativ	<1	2/2 (100%)	SFA	
10	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-4p	
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
14	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
16	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	11		1	
Anzahl negativ	2		12	
Prozent positiv	85		8	
Prozent negativ	15		92	
Konsenswert	positiv		negativ	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A. Es wurden 2 negative Ergebnisse für Probe A erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

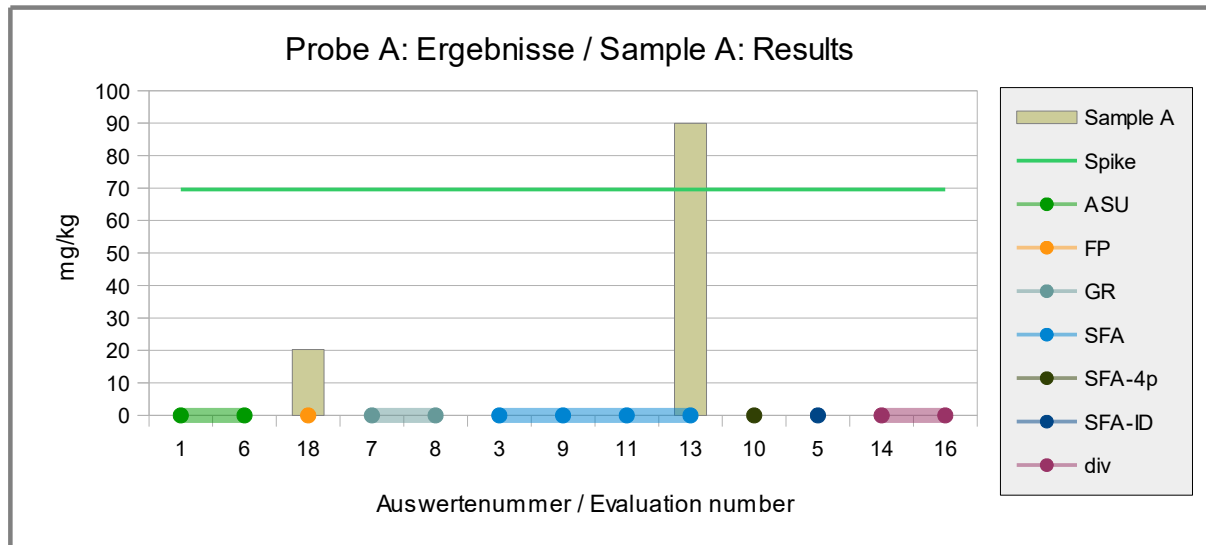


Abb./Fig. 19: PCR-Ergebnisse Sellerie
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Sellerie	Sellerie	z-Score $X_{pt,ALL}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
1	positiv			ASU	
6	positiv			ASU	
18	positiv	24,7		FP	
7	-			GR	
8	positiv			GR	
3	positiv			SFA	
9	positiv			SFA	
11	positiv			SFA	
13	positiv	143		SFA	
10	positiv			SFA-4p	
5	positiv			SFA-ID	
14	positiv	0,00800		div	
16	positiv			div	

	Probe A	
Anzahl positiv	12	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

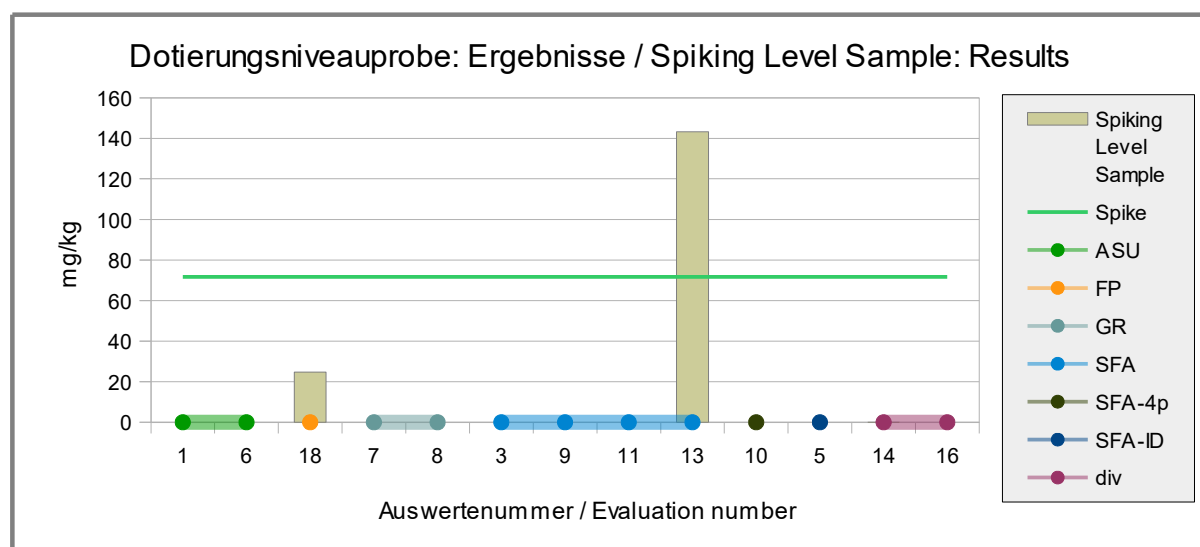


Abb./Fig. 20: PCR-Ergebnisse Sellerie
grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Sellerie:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]		
1							ASU	
6							ASU	
18	24,7	34,4	-2,6	20,3	29,2	-2,8	FP	
7							GR	
8							GR	
3							SFA	
9							SFA	
11							SFA	
13	143	200	4,0	90,0	129	1,2	SFA	
10							SFA-4p	
5							SFA-ID	
14	0,00800	0,01	-4,0				div	
16							div	

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen

SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Kein Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lag eine (50%) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

Hinweis: Es ist zu beachten, dass die EP-Proben Sellerieblätter enthalten, während die Ergebnisangabe der Teilnehmer ggf. als Selleriesaat angegeben wurde.

4.3.3 Ergebnisse anderer Methoden: Sellerie**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
15	negativ		negativ		-	NGS	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	0		0	
Anzahl negativ	1		1	
Prozent positiv	0		0	
Prozent negativ	100		100	
Konsenswert	-		-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

Es wurde für beide LVU-Proben A und B ein negatives Ergebnis erhalten. Die Dotierung von Probe A wurde nicht erkannt.

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Sellerie	Sellerie	z-Score X_{pt_ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
15	positiv			NGS	

Anzahl positiv	1	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	-	

Methode:

NGS = Next Generation Sequencing

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurde ein positives Ergebnis erhalten.

Quantitative Auswertung anderer Ergebnisse:
Probe A und Dotierungsniveauprobe

Da keine quantitativen Ergebnisse vorlagen, erfolgte keine quantitative Auswertung.

4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA Pistazien Xpt (div. Methoden)		ELISA Mollusken (Gesamtprotein) Xpt (div. Methoden)		ELISA Mollusken (Tropomyosin) Xpt (div. Methoden)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A*	Dot. Probe
1				-1,7		-1,7
2	-2,9	-3,1	-0,67	-0,53		
3						
4			1,0	0,55	0,44	0,65
5						
6	-0,02	-0,18				
7						
8						
9						
10						
11						
12	2,0	4,3	-0,60	-0,09	-0,98	0,00
13	0,08	-0,10				
14						
15						
16			0,00	-0,45	-0,44	-0,36
17	1,0	1,2	3,2	4,5	2,4	4,7
18	0,58	-0,32				
19	-1,2	-0,75				

* z-Scores rein informativ

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 des Zusatzniveaus
(Wiederfindungsraten)**

Auswerte- nummer	ELISA Pistazien Xpt (Zusatz)		ELISA Mollusken (Gesamtprotein) Xpt (Zusatz)		PCR Pistazien Xpt (Zusatz)		PCR Mollusken Xpt (Zusatz)		PCR Sellerie Xpt (Zusatz)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1				-2,3						
2	-1,6	-2,0	-2,1	-1,4						
3										
4			-1,2	-0,56						
5										
6	4,7	4,2								
7										
8										
9										
10	37	35								
11										
12	9,0	14	-2,1	-1,0						
13	4,9	4,4			4,6	8,2	2,1	4,3	1,2	4,0
14						-4,0		-4,0		-4,0
15										
16			-1,7	-1,3						
17	7,0	7,1	0,05	2,5						
18	6,0	3,9							-2,8	-2,6
19	2,2	3,0								

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

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

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

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

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: Pistazien

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%		Test-Kit + Anbieter
3M	2	03.12.21	positiv	4,56	negativ	<1	positiv	3,5		1		Pistazienprotein	3M Pistachio Protein ELISA Kit E96PST
AQ	6	28.12.21	-	75,61	-	< BG	-	65,82		1		Pistazien, gesamt	AgraQuant ELISA Pistachio, RomerLabs
AQ	12	07.01.22	positiv	113	negativ	<NWG	positiv	143	0,04	0,12		Pistazien, gesamt	AgraQuant, RomerLabs
AQ	16	07.01.22	negativ	<1	negativ	<1	negativ	<1		1		Pistazien, gesamt	AgraQuant ELISA Pistachio COKAL2748, RomerLabs
AQ-P	10	04.01.22	positiv	77,95	negativ	< 1	positiv	68,06				Pistazienprotein	AgraQuant Plus ELISA Pistachio COKAL2748F, RomerLabs
BC	13	15.12.21	positiv	77,44	negativ	<1	positiv	67,25	1	1	27,7	Pistazien, gesamt	BioCheck ELISA Pistachio-Check
BF	5		positiv	>40	negativ	< 1	positiv	>40		1		Pistazienprotein	MonoTrace Pistachio ELISA kit, BioFront Technologies
BF	19	22/2	positiv	54	positiv	ND	positiv	56	0,12	1		Pistazien, gesamt	MonoTrace Pistachio ELISA kit, BioFront Technologies
IL	14		positiv		negativ		positiv		1	2	21	Pistazienprotein	Immunolab Pistachio ELISA
IL	18	28.12.21	positiv	87	negativ	<BG	positiv	63,5	x	1	18,3	Pistazien, gesamt	Immunolab Pistachio ELISA
SP	17	17.12.21	positiv	95	negativ	<BG	positiv	89	0,07	1		Pistazien, gesamt	Eurofins SensiSpec Pistachio ELISA Kit

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
3M	2		wie in der Kit-Beilage angegeben	ja	Wiederfindung in Probe B: 115 %
AQ	6		nach Testanleitung	ja	
AQ	12				
AQ	16				
AQ-P	10			nein	
BC	13	Gemäß Kit-Anleitung	Gemäß Kit-Anleitung	ja	
BF	5			ja	
BF	19	Monoklonaler Antikörper	Extraktionsverhältnis 1:10, 10 Minuten bei 60 °C	nein	ND = not detected (= nicht erkannt)
IL	14				
IL	18		Proben 1:3 verdünnt, Extraktionsreagenz wegen Gewürzen zu A,B hinzugefügt	ja	Probe B war >NWG, aber <BG. Gemäß Methodenvorgaben sind gefundene Werte <BG als negativ zu bezeichnen. Es wurde jedoch festgestellt, dass Probe B >NWG (0,55-1,3 ppm) ist.
SP	17				

5.1.2 ELISA: Mollusken

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
3M	2	03.12.21	positiv	24,47	negativ	<1	positiv	35,86		1		Mollusken-Protein	3M Mollusk Protein ELISA Kit E96MOL
AQ	12	07.01.22	positiv	0,034	negativ	<NWG	positiv	0,055	0,0007	0,002		Mollusken-Tropomyosin	AgraQuant, RomerLabs
AQ	16	07.01.22	positiv	0,04	negativ	<0.01	negativ	0,05		0,01		Tropomyosin	AgraQuant ELISA Mollusk RomerLabs
SP	1	22.11.	positiv	<0,03	negativ	<0,03	positiv	0,032	0,01	0,03		Tropomyosin	Eurofins SensiSpec Molluscs (Tropomyosin) ELISA Kit
SP	4	2021-12-17	positiv	0,05	negativ	0	positiv	0,064	0,0017	0,011	-	Tropomyosin	Eurofins SensiSpec Molluscs (Tropomyosin) ELISA Kit
SP	17	17.12.21	positiv	0,072	negativ	<BG	positiv	0,12	0,002	0,01		Tropomyosin	Eurofins SensiSpec Molluscs (Tropomyosin) ELISA Kit

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
3M	2		wie in der Kit-Beilage angegeben	ja	Wiederfindung in Probe B: 106 %
AQ	12				
AQ	16				
SP	1	erkennt Weichtier-Tropomyosin	lt. Herstellerangaben	ja	HU0030015/HU0030039; Probe A: 0,024mg/kg
SP	4	Tropomyosin	1. Zugabe der Extraktionslösung nach Testkit/Zeit; 15 min/ Temperatur; 60 C 2. ELISA-Zeit; 60 min/ Inkubationstemperatur 20-25 C	nein	
SP	17				

5.1.3 PCR: Pistazien

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
BS	8	03.01.22	positiv		negativ		positiv		5			Bitte auswählen!	qualyfast allergen, BIOSIDE
GR	7	22.11.21	positiv		negativ		-		100			Bitte auswählen!	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
SFA	3		positiv		negativ		positiv		0,4			Lebensmittel	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	10	04.01.22	positiv		negativ		positiv					DNA-Pistazien	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	11		positiv		negativ		positiv		0,4			DNA-Pistazien	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	13	17.11.21	positiv	74,26	negativ	<1	positiv	98	1	1	45	Pistazien, gesamt	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	5		positiv		negativ		positiv		0,4			DNA-Pistazien	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	1	12.11.	positiv		negativ		positiv		0,5			DNA-Pistazien	interne Methode
div	14		positiv		negativ		positiv	0,008	0,08			Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
BS	8			ja	
GR	7			ja	
SFA	3				
SFA	10		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	nein	
SFA	11		real time PCR	nein	
SFA	13	Gemäß Kit-Anleitung	Gemäß Kit-Anleitung	ja	
SFA-ID	5			ja	
div	1		CTAB / Proteinase K / Rnase A / Promega Maxwell / realtime PCR	ja	
div	14				

5.1.4 PCR: Mollusken

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
SFA	3		positiv		negativ		positiv		0,4			Lebensmittel	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	11		positiv		negativ		positiv		0,4			DNA-Mollusken	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	13	17.11.21	positiv	105,64	negativ	<1	positiv	149,77	1	1	48,44	Mollusken, frisch	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	5		positiv		negativ		positiv		0,4			DNA-Mollusken	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	14		positiv		negativ		positiv	0,08	/			Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	3				
SFA	11		real time PCR	nein	
SFA	13	Gemäß Kit-Anleitung	Gemäß Kit-Anleitung	ja	
SFA-ID	5			ja	
div	14				

5.1.5 PCR: Sellerie

Meth. Abk.	Auswerte-nummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
ASU	1	12.11.	positiv		negativ		positiv		10			Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	6	24.11.21	positiv		negativ		positiv					Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method
FP	18	30.12.21	positiv	20,3	negativ	<NWG	positiv	24,7	0,1	0,8		Sellerie-DNA	foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
GR	7	22.11.21	positiv		negativ		-		100			Bitte auswählen!	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
GR	8	04.01.22	negativ		negativ		positiv		0,5			Bitte auswählen!	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
SFA	3		positiv		positiv		positiv		0,4			Lebensmittel	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	9	24.12.22	positiv		negativ		positiv		0,4			Sellerie	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	11		positiv		negativ		positiv		0,4			Sellerie-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	13	17.11.21	positiv	89,96	negativ	<1	positiv	143,26	1	1	45,94	Selleriesamen, getrocknet	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	10	04.01.22	positiv		negativ		positiv					DNA-Pistazien	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	5		positiv		negativ		positiv		0,4			Sellerie-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	14		positiv		negativ		positiv	0,008	0,08			Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden
div	16	07.01.22	negativ		negativ		positiv		10			Sellerie	

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswerte-nummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	1		CTAB / Proteinase K / Rnase A / Promega Maxwell / realtime PCR	ja	§ 64 LFGB L 08.00-56
ASU	6	Protein der Mannitoldehydro-genase	Dotierungsprobe: SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen Probe A+B: Dneasy Mericon Food-Kit/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen	ja	
FP	18		st curve 301221		
GR	7			ja	
GR	8			ja	
SFA	3				
SFA	9	DNA		ja	
SFA	11		real time PCR	nein	
SFA	13	Gemäß Kit-Anleitung	Gemäß Kit-Anleitung	ja	
SFA-4p	10		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	nein	
SFA-ID	5			ja	
div	14				
div	16		Hausmethode		

5.1.6 Ergebnisse anderer Methoden: Pistazien

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
NGS	15		negativ		negativ		positiv						NGS

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
NGS	15				ja	

5.1.7 Ergebnisse anderer Methoden: Mollusken

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
NGS	15		positiv		negativ		positiv						NGS

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
NGS	15				ja	

5.1.8 Ergebnisse anderer Methoden: Sellerie

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
NGS	15		negativ		negativ		positiv						NGS

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
NGS	15				ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA-ptAL07 Probe A

Gewicht Gesamtprobe	2,60	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	20,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	40	16,0
2	5,05	56	22,2
3	5,06	43	17,0
4	4,98	54	21,7
5	5,02	44	17,5
6	4,97	54	21,7
7	4,97	53	21,3
8	4,99	57	22,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8
Freiheitsgrad	7
Mittelwert	50,1 Partikel
Standardabweichung	6,79 Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	6,44
Wahrscheinlichkeit	49 %
Wiederfindungsrate	97 %

Normalverteilung

Probenanzahl	8
Mittelwert	20,0 mg/kg
Standardabweichung	2,71 mg/kg
rel. Standardabweichung	13,5 %
Horwitz Standardabweichung	10,2 %
HorRat-Wert	1,3
Wiederfindungsrate	97 %

Microtracer Homogenitätstest

DLA-ptAL07 Dotierungsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	28,3	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	58	23,2
2	4,98	57	22,9
3	5,02	72	28,7
4	5,02	78	31,1
5	5,02	57	22,7
6	5,02	73	29,1
7	5,02	70	27,9
8	4,98	61	24,5

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8
Freiheitsgrad	7
Mittelwert	65,7 Partikel
Standardabweichung	8,24 Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	7,23
Wahrscheinlichkeit	41 %
Wiederfindungsrate	93 %

Normalverteilung

Probenanzahl	8
Mittelwert	26,3 mg/kg
Standardabweichung	3,29 mg/kg
rel. Standardabweichung	12,5 %
Horwitz Standardabweichung	9,8 %
HorRat-Wert	1,3
Wiederfindungsrate	93 %

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL07 - 2021
EP-Name	Allergene VII: Pistazien, Mollusken und Sellerie in Instantnudelsuppe
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Brokkoli-Nudelsuppe / Zutaten: Glutenfreie Nudeln (40%), Maltodextrin, Palmfett, modifizierte Stärke, Glukosesirup, jodiertes Speisesalz, Reismehl, Hefeextrakt, 1,4 % Brokkoli, Lauch, Zwiebeln, Stabilisator Diphosphate, Spinat, Verdickungsmittel Xanthan, Knoblauch, Gewürze, Gemüsesaftkonzentrate (Karotte, Zwiebel), Aroma, Tomatenextrakt, Sonnenblumenöl, Liebstöckel, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Pistazien, Mollusken, Sellerie (Protein / DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	spätestens 7. Januar 2022
Auswertebericht	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Dr. Matthias Besler-Scharf

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

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

- methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
 23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
 24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
 25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. 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 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (Bertholletia excelsa) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (Bertholletia excelsa) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 34. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 35. 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]
 36. 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]

DLA ptAL07 (2021) - Allergene VII

Alle 19 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Pistazien und Mollusken (Protein, Tropomyosin) für ELISA-Methoden (qualitativ und quantitativ) und hinsichtlich der Parameter Pistazien, Mollusken und Sellerie für PCR-Methoden (qualitativ) und andere Methoden (qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe A ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebericht zu entnehmen.

12 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Frankreich, Griechenland, Großbritannien, Italien, Portugal, Spanien) und jeweils ein Teilnehmer in Kanada, Thailand und in den USA.