



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 03/2019**

**Allergene III:**

**$\beta$ -Lactoglobulin, Casein und Gluten**

**in Kindernahrung**

***DLA - Proficiency Tests GmbH***

*Kalte Weide 21*

*24641 Sievershütten/Germany*

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

*Koordinator der LVU:*

*Dr. Matthias Besler-Scharf*

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b>          Kalte Weide 21, 24641 Sievershütten, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf          Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358          Mob. ++49(0)171-1954375          Fax. ++49(0)4102-9944976          eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 03/2019
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (14. August 2019)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen.          Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager)          - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i>          Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager)          - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i>          Datum / Date: 14. August 2019</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben.</p> <p>In case the analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben.</p> <p>Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	10
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	10
2.3 Ergebnisübermittlung.....	10
3. Auswertung.....	11
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	11
3.2 Robuste Standardabweichung.....	12
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	12
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	13
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	13
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision .....	13
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen .....	16
3.5 z-Score.....	17
3.6 z'-Score.....	18
3.7 Quotient S*/opt.....	18
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	18
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	19
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	19
4. Ergebnisse.....	20
4.1 Vergleichsuntersuchung $\beta$ -Lactoglobulin.....	22
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: $\beta$ -Lactoglobulin.....	22
4.2 Vergleichsuntersuchung Casein / Milchprotein.....	31
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Casein.....	31
4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Milch (Milchprotein).....	41
4.3 Vergleichsuntersuchung Weizen (Gluten / Weizen).....	44
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	44
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Weizen.....	56
5. Dokumentation.....	57
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	57
5.1.1 ELISA: $\beta$ -Lactoglobulin.....	57
5.1.2 ELISA: Casein.....	59
5.1.3 ELISA: Milchprotein.....	61
5.1.4 ELISA: Gluten.....	62
5.1.5 PCR: Weizen.....	64
5.2 Homogenität.....	65
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	65
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	66
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	67
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	68

## 1. Einleitung

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

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um ein handelsübliches Kindernahrungsmittel "Getreide-Brei" ab dem 6. Monat (gekennzeichnet als milchfrei und glutenfrei). Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh <1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Magermilchpulver, Molkenpulver und Weizenmehl enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle zerkleinert und gesiebt (mesh <250 µm bzw. <500 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3 weiteren Schritten zugegeben und jeweils maschinell 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
Bio-Getreide-Brei, Kinderbrei ab dem 6. Monat Zutaten: Reismehl (70%), Maismehl (20%), Hirsevollkornmehl (10%), Thiamin Nährwertangaben pro 100 g: Fett 2,8 g, Kohlenhydrate 80 g, Eiweiß 8,7 g	100 g/100 g	99,8 g/100 g	-
Kartoffelpüree Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,8 g/100 g
<i>Milch-Anteil 1:</i> Magermilchpulver-Mischung (9 Produkte aus Europa, USA) - als Magermilchpulver* - davon 33,0% Gesamtprotein** - davon Casein*** - davon $\beta$ -Lactoglobulin***	-	1054 mg/kg 348 mg/kg 278 mg/kg 34,8 mg/kg	992 mg/kg 327 mg/kg 262 mg/kg 32,7 mg/kg
<i>Milch-Anteil 2:</i> Molkenpulver-Mischung (4 Produkte aus Deutschland) - als Molkenpulver* - davon 15,9% Gesamtprotein** - davon $\beta$ -Lactoglobulin***		343 mg/kg 54,5 mg/kg 27,2 mg/kg	353 mg/kg 56,2 mg/kg 28,1 mg/kg
<i>Summen der Milchanteile</i> - davon Gesamtprotein - davon Casein - davon $\beta$ -Lactoglobulin		1400 mg/kg 403 mg/kg 278 mg/kg 62,0 mg/kg	1345 mg/kg 383 mg/kg 262 mg/kg 60,8 mg/kg
<i>Weizen:</i> Weizenmehl-Mischung (21 Produkte aus Europa, Asien, USA) - als Weizenmehl* - davon 10,1% Gesamtprotein** - davon Gluten***	-	367 mg/kg 37,1 mg/kg 31,9 mg/kg	416 mg/kg 42,0 mg/kg 36,2 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	-	<0,2 g/100 g	<0,2 g/100 g

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

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit  $F=6,38$  für Milchprotein und  $F=5,7$  für Weizenprotein)

\*\*\* Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10%  $\beta$ -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [31]; ca. 50%  $\beta$ -Lactoglobulin in Molkenprotein [31]; ca. 8,7% Gluten in Weizenmehlen [32, 33, 34])

**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  $\mu\text{m}$ -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 B und Dotierungsmaterialprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 99% bzw. 95% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,59 bzw. 0,64 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### **Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B**

#### Durchführung der Homogenitätstests

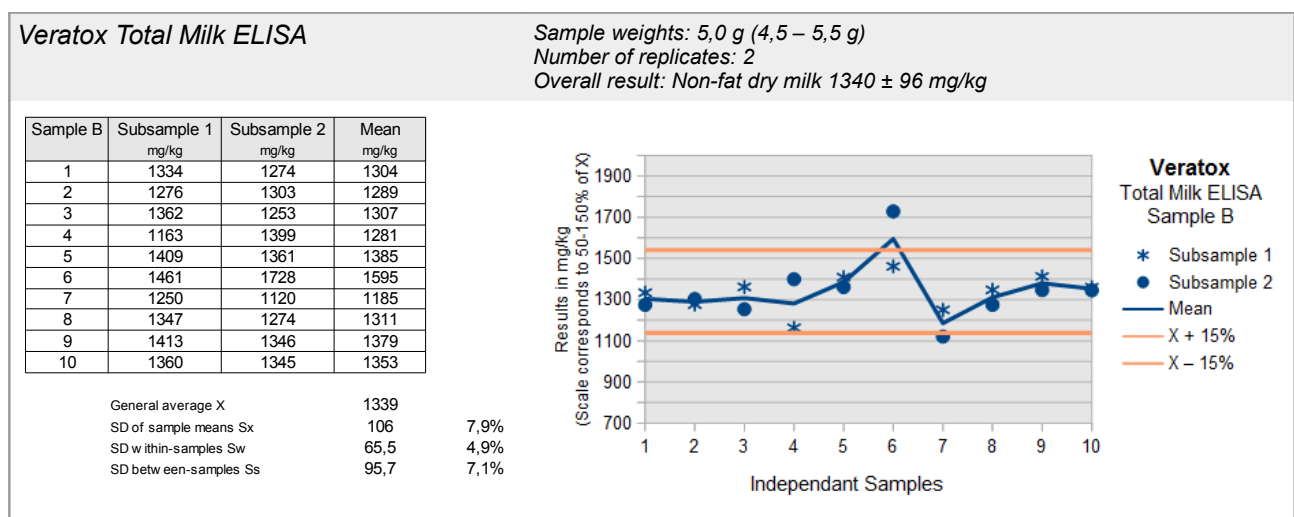
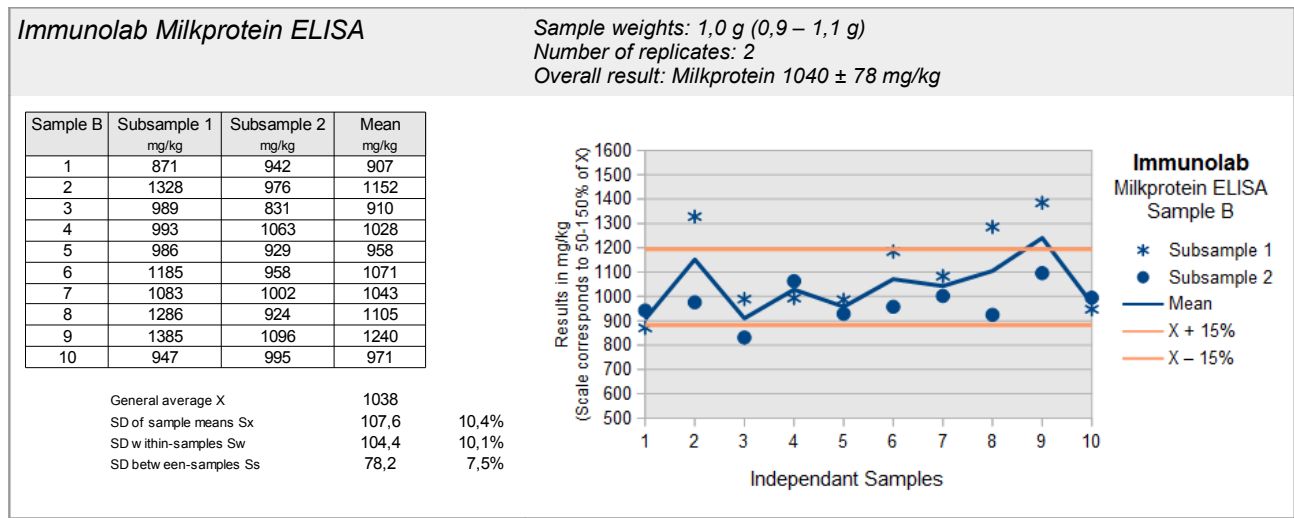
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-coodierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors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

#### Bewertung der Homogenität

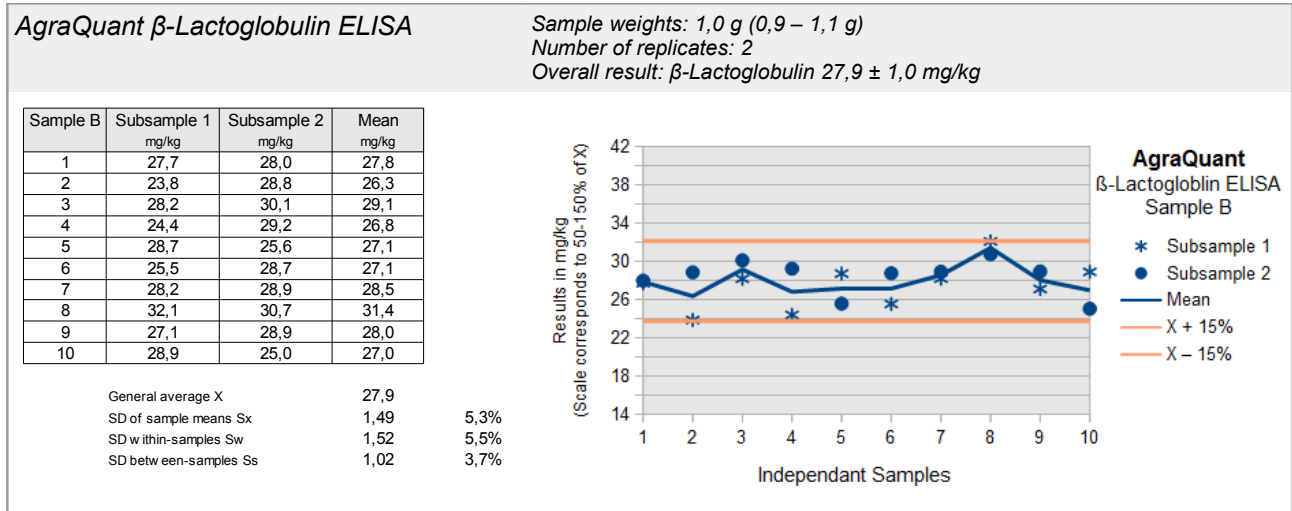
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von  $S_s \leq 15\%$  („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests sowohl für Milch / Milchprotein (Immunolab, Veratox und AgraQuant)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

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

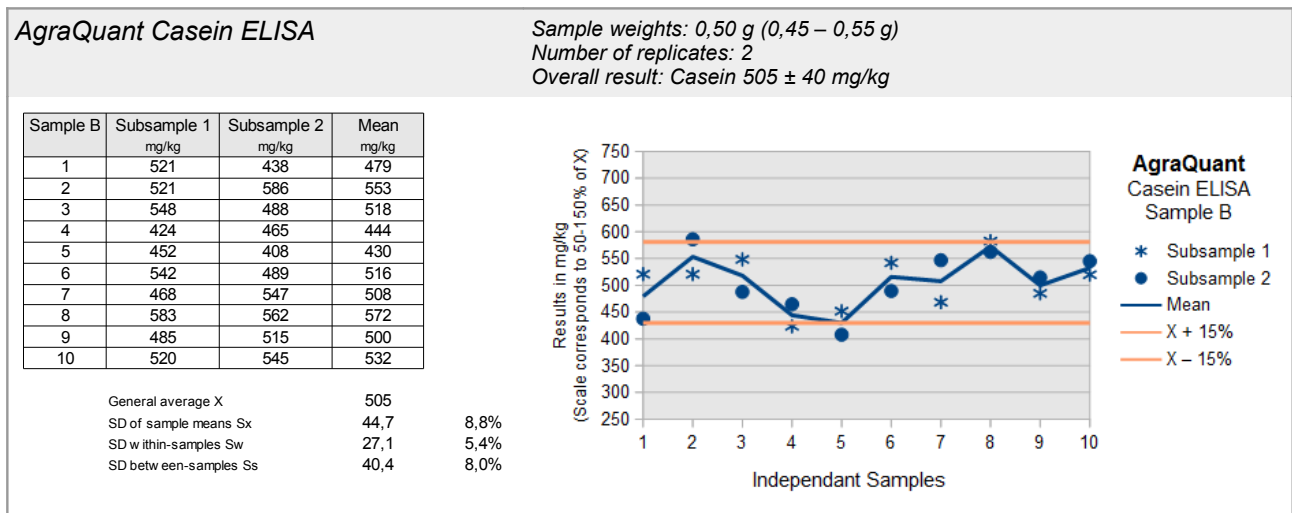
**ELISA-Tests: Homogenität Milch / Homogeneity Milk**



**ELISA-Tests: Homogenität  $\beta$ -Lactoglobulin / Homogeneity  $\beta$ -Lactoglobulin**

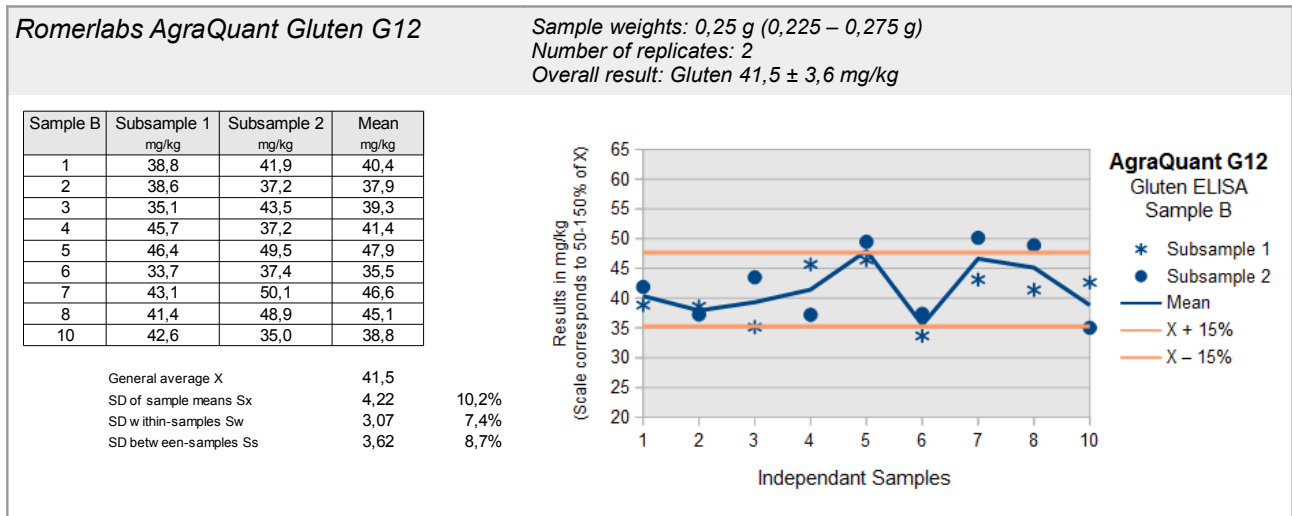
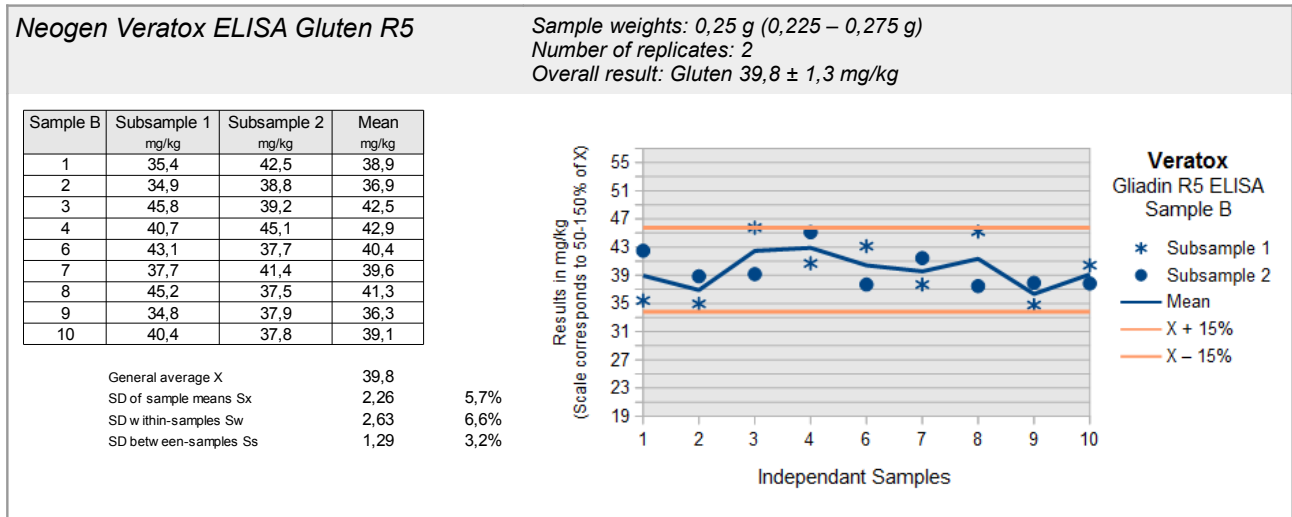
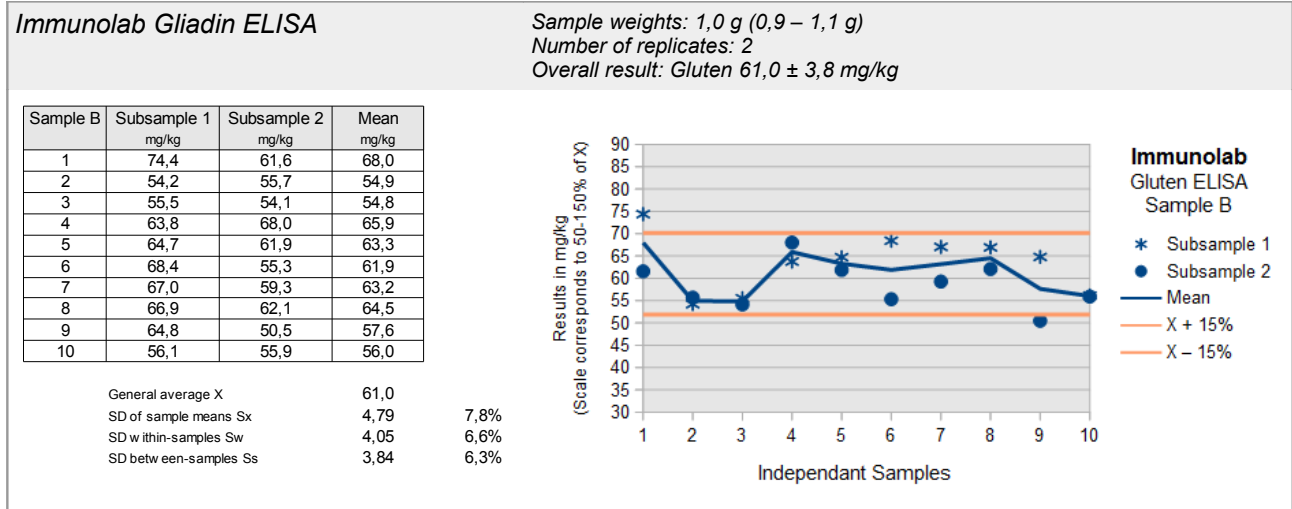


**ELISA-Tests: Homogenität Casein / Homogeneity Casein**





**ELISA-Tests: Homogenität Gluten / Homogeneity Gluten**



### 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.  $0,16$  ( $22,5^\circ\text{C}$ ). Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

## 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 11. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 26. April 2019.

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  $\beta$ -Lactoglobulin, Casein und Gluten im teils höheren mg/kg Bereich in der Matrix Kinderbrei (mit Reis, Mais und Hirse). Eine der beiden Proben sowie die "Dotierungsniveauprobe" wurden mit den allergenen Zutaten hergestellt. Die "Dotierungsniveauprobe" enthält die Allergene in einfacher Matrix mit ähnlichen Gehalten ohne weitere Prozessierung. Die Dotierungsniveauprobe soll wie eine normale Probe untersucht werden.*

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

## 2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Von 27 Teilnehmern haben 25 Teilnehmer ihre Ergebnisse fristgerecht abgegeben. 2 Teilnehmer haben keine Ergebnisse abgegeben.

### 3. Auswertung

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

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

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  $> 25$  mg/kg oder  $< 2,5$  mg/kg) oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung generell nicht berücksichtigt [3].

### 3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

### 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

### 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

#### *3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz*

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  kann als relative Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  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.

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

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

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  $\sigma_R$  und der Wiederholstandardabweichung  $\sigma_r$  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  $\sigma_{pt}$  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  $\sigma_{pt}$  wurden für eine Anzahl von  $m = 2$  Wiederholmessungen berechnet. Bei einer Anzahl von  $m = 1$  ist die Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  gleich der Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$ .

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

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

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

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

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

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

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

### 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	± 25% <sup>(a)</sup>	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir für die relative Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  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 ( $\sigma_{pt}$ ) 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<sub>ALL</sub>** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **z<sub>METHOD i</sub>** (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  $\geq 10$  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 ( $\sigma_{pt}$ ) 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  $\sigma_{pt}'$  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 $S^*/\sigma_{pt}$

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

### 3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

gering für die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes gewählt wurde.

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

### 3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

### 3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

## 4. Ergebnisse

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

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

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

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

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

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

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

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

Milchprotein-spezifische ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt des Rohstoffs (s. S.5) in **Gesamt-Milchprotein** umgerechnet worden (Neogen Veratox, Ridascreen Fast).

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

Qualitativ werden die Ergebnisse anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern  $\geq 75$  % 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 <sup>o</sup> :		
Zielstandardabweichung $\sigma_{pt}$ bzw. $\sigma_{pt}'$		
untere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} - 2\sigma_{pt}$ ) bzw. ( $X_{pt} - 2\sigma_{pt}'$ ) <sup>o</sup>		
obere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} + 2\sigma_{pt}$ ) bzw. ( $X_{pt} + 2\sigma_{pt}'$ ) <sup>o</sup>		
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$ bzw. $S^*/\sigma_{pt}'$		
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

<sup>o</sup> 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 $\beta$ -Lactoglobulin

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: $\beta$ -Lactoglobulin

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
1	negativ	<LOD	positiv	18,7	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	<LOD	positiv	18,0	2/2 (100%)	AQ	
20	negativ	< LOD	positiv	16,0	2/2 (100%)	AQ	
4	negativ	<0,1	positiv	>1	2/2 (100%)	ES	
13	negativ	<0,10	positiv	98,0	2/2 (100%)	ES	
14	negativ	<LOD	positiv	137	2/2 (100%)	ES	
12	negativ	<0,01	positiv	207	2/2 (100%)	IL	
25	negativ	0	positiv	14,2	2/2 (100%)	IL	
16	negativ		positiv	32,5	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	negativ	<0,031	positiv	32,0	2/2 (100%)	MI-II	
10	negativ	<2,63	positiv	36,4	2/2 (100%)	RS	
2	negativ		positiv	10,0	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	0,07	positiv	4,56	2/2 (100%)	RS-F	
8	negativ	<1,5	positiv	36,0	2/2 (100%)	RS-F	
9	negativ		positiv	29,1	2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ		positiv		2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ		positiv	> 4,5	2/2 (100%)	RS-F	
21	negativ	<0,2	positiv	>4,5	2/2 (100%)	RS-F	
24	negativ	<0,167	positiv	18,9	2/2 (100%)	RS-F	

° Umrechnung S. 20

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	19
Anzahl negativ	19	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

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

#### Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	$\beta$ -Lactoglobulin [mg/kg]	z'-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{RS-F}}$ informativ	Methode	Hinweis
1	18,7	-0,69		AQ	
18	18,0	-0,78		AQ	
20	16,0	-1,0		AQ	
4	>1			ES	
13	98,0	9,8		ES	
14	137			ES	Ergebnis ausgeschlossen
12	207			IL	Ergebnis ausgeschlossen
25	14,2	-1,3		IL	
16	32,5	1,1		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	32,0	1,1		MI-II	
10	36,4	1,7		RS	
2	10,0	-1,8	-2,0	RS-F	
5	4,56	-2,5	-3,1	RS-F	
8	36,0	1,6	3,3	RS-F	
9	29,1	0,69	1,9	RS-F	
11				RS-F	
15	> 4,5			RS-F	
21	>4,5			RS-F	
24	18,9	-0,66	-0,17	RS-F	

° Umrechnung S. 20

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

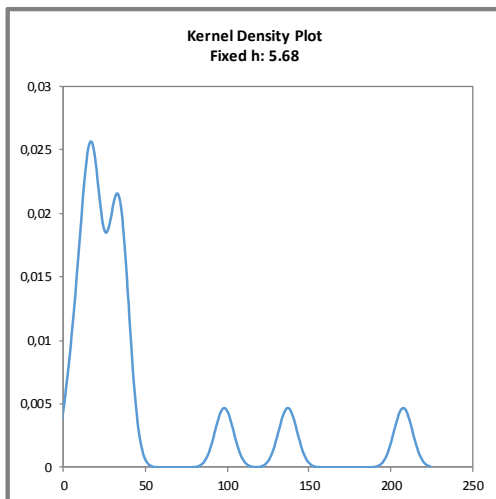
ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

**Abb. / Fig. 1:**Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt_{ALL}}$ )Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt_{ALL}}$ )**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Verteilung der Ergebnisse mit zwei Maxima (Ergebnisse von je 3 Methoden) und drei Nebenpeaks bei > 60 mg/kg (Methoden ES und IL), die auf Einzelergebnisse oberhalb des Zielbereichs zurück gehen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA  $\beta$ -Lactoglobulin**Probe B**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL}$	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse*	13	5
Anzahl der Ausreißer	2	0
Mittelwert	28,0	19,7
Median	18,9	18,9
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>23,9</b>	<b>19,7</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>13,4</b>	<b>14,8</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}'</math> bzw. <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>7,57</b>	<b>4,93</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>8,73</b>	<b>9,85</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>39,0</b>	<b>29,6</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}'</math> bzw. <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	1,8	3,0
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	4,66	8,25
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	11	3
<i>Prozent im Zielbereich</i>	85	60

\*ohne Ergebnisse Nr. 12 und 14 (vorab ausgeschlossen)

**Methode:**

RS = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte, nach Ausschluss von zwei Ergebnissen, keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

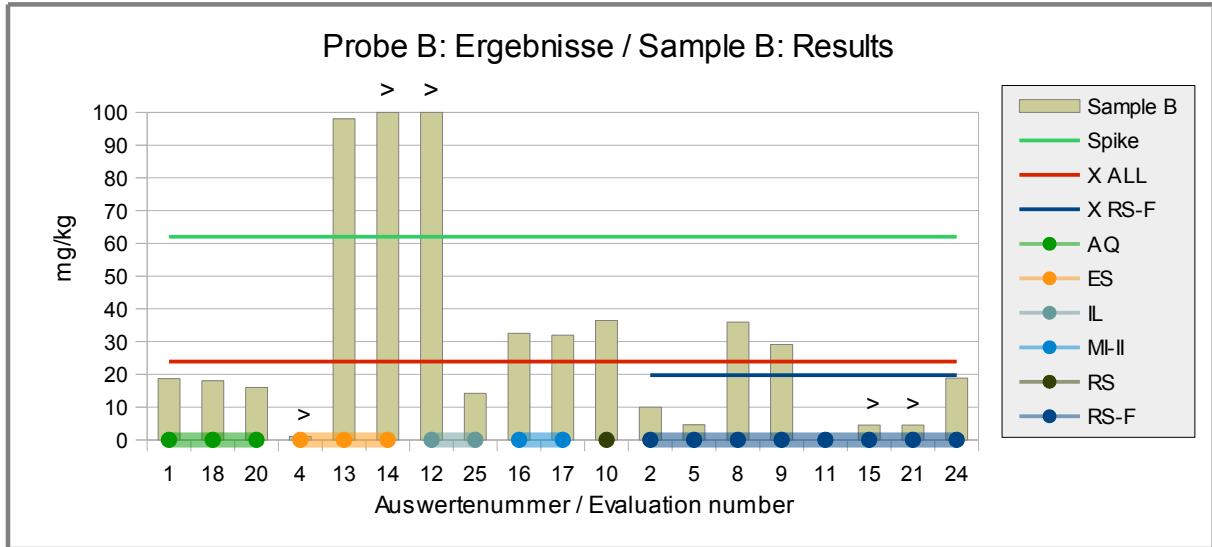
Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  von 2,3 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}'$  lag dann unter 2,0.

Die robuste Standardabweichung liegt oberhalb 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 für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

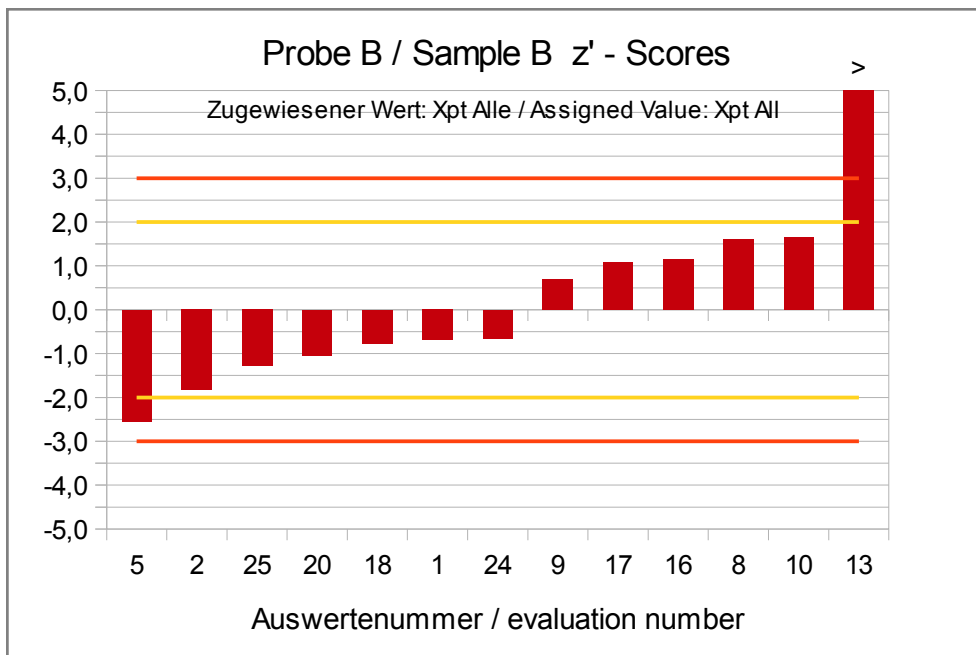
Die Auswertung der Ergebnisse der Methode RS-F zeigte mit wenigen vorliegenden Ergebnissen eine hohe Variabilität. Die Auswertung erfolgte daher ausschließlich zur Information.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 39% bzw. 32% vom Zusatzniveau von  $\beta$ -Lactoglobulin zu Probe B, unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für  $\beta$ -Lactoglobulin" S.30).

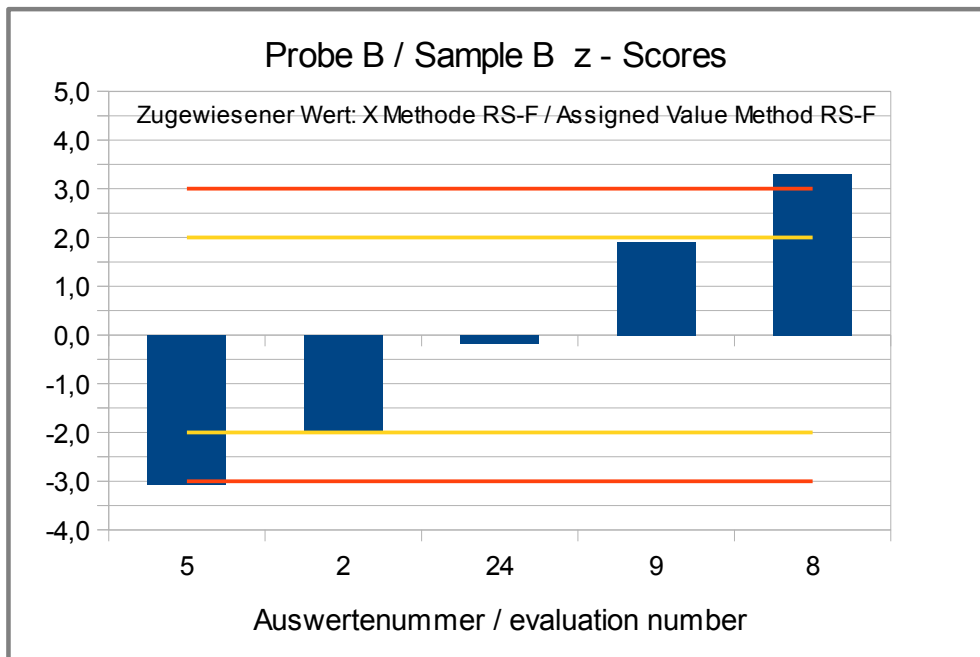




**Abb./Fig. 2:** ELISA-Ergebnisse  $\beta$ -Lactoglobulin  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 3:**  
 z'-Scores (ELISA-Ergebnisse als  $\beta$ -Lactoglobulin)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 4:**

z-Scores zur Information (ELISA-Ergebnisse als  $\beta$ -Lactoglobulin)  
 Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm,  
 Ridascreen Fast)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	$\beta$ -Lactoglobulin [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	Methode	Hinweis
1	18,8	-0,94	AQ	
18	16,0	-1,4	AQ	
20	16,1	-1,4	AQ	
4	>1		ES	
13	93,0	11	ES	
14			ES	
12	14,5	-1,6	IL	
25	12,9	-1,9	IL	
16	31,0	1,1	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	31,0	1,1	MI-II	
10	28,9	0,72	RS	
2			RS-F	
5	4,53	-3,3	RS-F	
8	36,7	2,0	RS-F	
9	33,8	1,5	RS-F	
11			RS-F	
15	> 4,5		RS-F	
21	>4,5		RS-F	
24	29,7	0,85	RS-F	

° Umrechnung S. 20

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

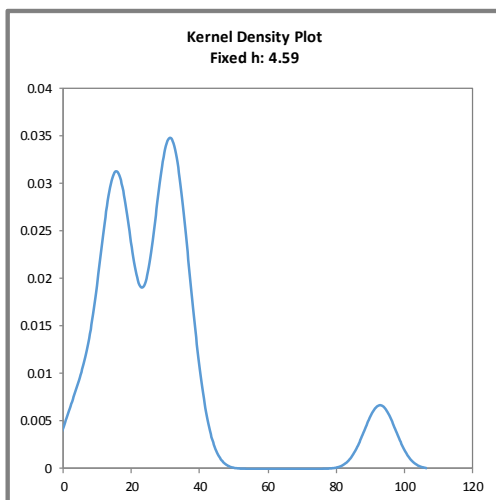
ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

**Abb. / Fig. 5:**Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt_{ALL}}$ )Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt_{ALL}}$ )**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Verteilung der Ergebnisse mit zwei Maxima (Ergebnisse von je 3 Methoden) und einen Nebenpeak bei ca. 90 mg/kg, der auf einen Einzelwert zurückgeht (Methode ES).

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA  $\beta$ -Lactoglobulin****Dotierungsniveauprobe**

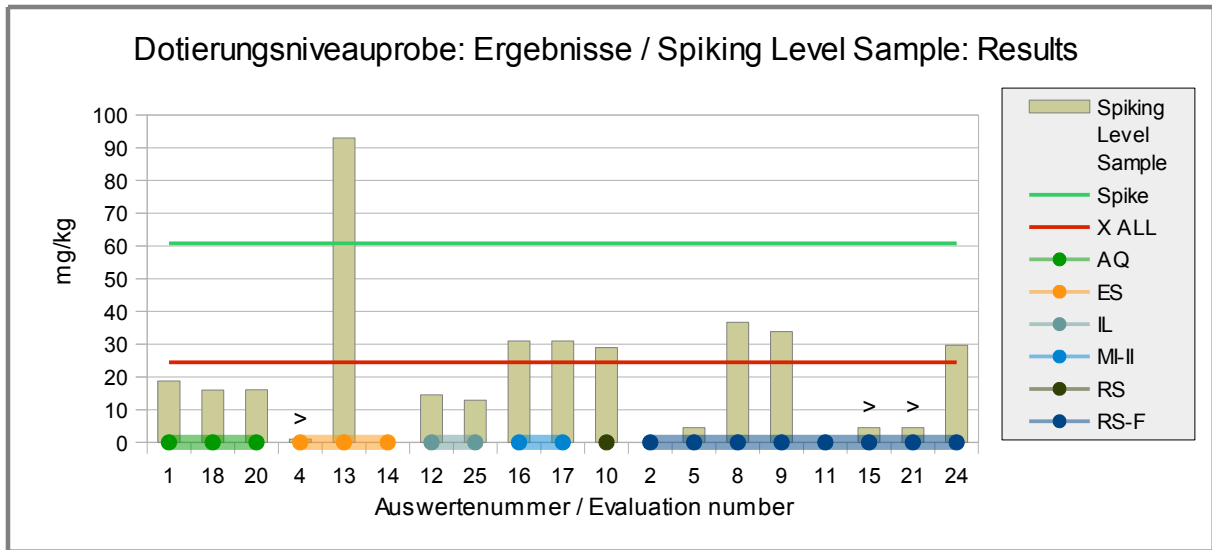
<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$
Anzahl der Messergebnisse	13
Anzahl der Ausreißer	-
Mittelwert	28,2
Median	28,9
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>24,5</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>12,7</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>6,12</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>12,2</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>36,7</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	2,1
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	4,40
Ergebnisse im Zielbereich	11
Prozent im Zielbereich	85

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

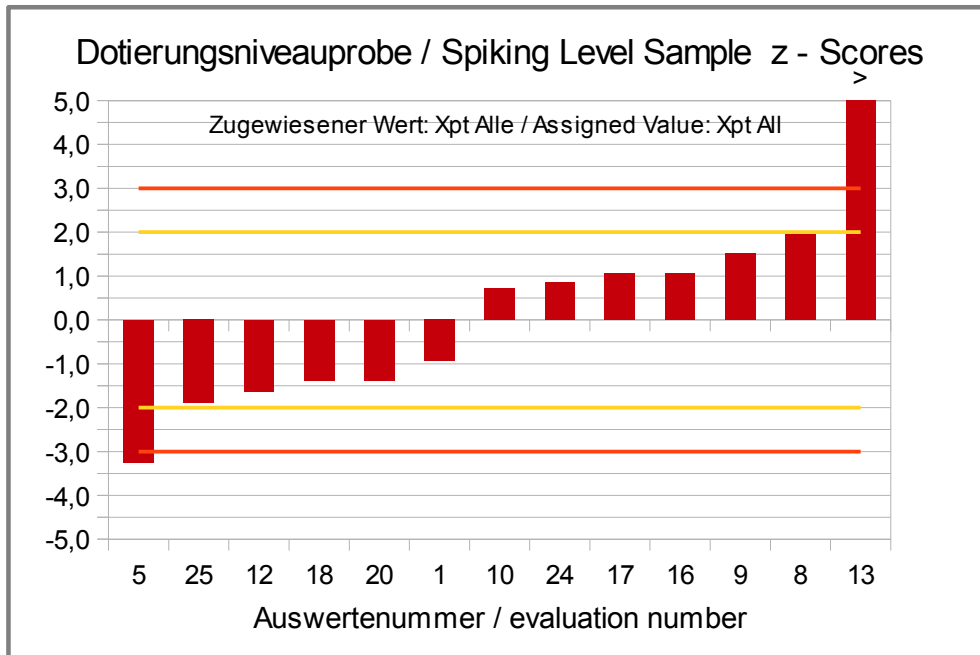
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (zwei Maxima mehrerer Methoden, ein hoher Einzelwert).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine leicht erhöhte Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag bei 2,1. Die robuste Standardabweichung liegt oberhalb 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 für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 40% vom Zusatzniveau von  $\beta$ -Lactoglobulin zur Dotierungsniveauprobe unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für  $\beta$ -Lactoglobulin", s. S.30).



**Abb./Fig. 6:** ELISA-Ergebnisse  $\beta$ -Lactoglobulin  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 7:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse  $\beta$ -Lactoglobulin)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

**Wiederfindungsraten ELISA für  $\beta$ -Lactoglobulin:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
1	18,8	31	18,7	30	AQ	
18	16,0	26	18,0	29	AQ	
20	16,1	26	16,0	26	AQ	
4	>1		>1		ES	
13	93,0	153	98	158	ES	
14			137	221	ES	
12	14,5	24	207	334	IL	
25	12,9	21	14,2	23	IL	
16	31,0	<b>51</b>	32,5	<b>52</b>	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	31,0	<b>51</b>	32,0	<b>52</b>	MI-II	
10	28,9	48	36,4	<b>59</b>	RS	
2			10,0	16	RS-F	
5	4,53	7,5	4,56	7,4	RS-F	
8	36,7	<b>60</b>	36,0	<b>58</b>	RS-F	
9	33,8	<b>56</b>	29,1	47	RS-F	
11					RS-F	
15	> 4,5		> 4,5		RS-F	
21	>4,5		>4,5		RS-F	
24	29,7	49	18,9	<b>30</b>	RS-F	

° Umrechnung S. 20

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>4</b>	Anzahl im AB	<b>4</b>
Prozent im AB	<b>31</b>	Prozent im AB	<b>27</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

31% (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 B lagen 27% (4) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Casein / Milchprotein

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Casein

#### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
1	negativ	<LOD	positiv	1475	2/2 (100%)	AQ	
8	negativ	<1,5	positiv	332	2/2 (100%)	AQ	
9	negativ		positiv	424	2/2 (100%)	AQ	
13	negativ	<0,20	positiv	410	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	<LOD	positiv	498	2/2 (100%)	AQ	
19	negativ	< 0,2	positiv	425	2/2 (100%)	AQ	
20	negativ	< LOD	positiv	436	2/2 (100%)	AQ	
6	negativ	0	positiv	198	2/2 (100%)	BF	
4	negativ	<0,256	positiv	>2,56	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
14	negativ	<LOD	positiv	47,7	2/2 (100%)	ES	
12	negativ	<0,2	positiv	163	2/2 (100%)	IL	
25	negativ	0	positiv	477	2/2 (100%)	IL	
16	negativ		positiv	302	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	negativ	<0,25	positiv	340	2/2 (100%)	MI-II	
2	negativ		positiv	7,90	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	0,49	positiv	77,4	2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ		positiv	340	2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ		positiv	>67,5	2/2 (100%)	RS-F	
21	negativ	<3,0	positiv	640	2/2 (100%)	RS-F	
24	negativ	<2,5	positiv	200	2/2 (100%)	RS-F	

° Umrechnung S. 20

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	20
Anzahl negativ	20	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 ES = ELISA-Systems  
 IL = Immunolab  
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

#### Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>AQ</sub>	Methode	Hinweis
1	1475	14	9,4	AQ	
8	332	0,00	-1,0	AQ	
9	424	1,1	-0,16	AQ	
13	410	0,94	-0,29	AQ	
18	498	2,0	0,51	AQ	
19	425	1,1	-0,15	AQ	
20	436	1,3	-0,05	AQ	
6	198	-1,6		BF	
4	>2,56			ES	Ergebnis umgerechnet °
14	47,7	-3,4		ES	
12	163	-2,0		IL	
25	477	1,7		IL	
16	302	-0,35		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	340	0,10		MI-II	
2	7,90	-3,9		RS-F	
5	77,4	-3,1		RS-F	
11	340	0,10		RS-F	
15	>67,5			RS-F	
21	640	3,7		RS-F	
24	200	-1,6		RS-F	

° Umrechnung S. 20

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

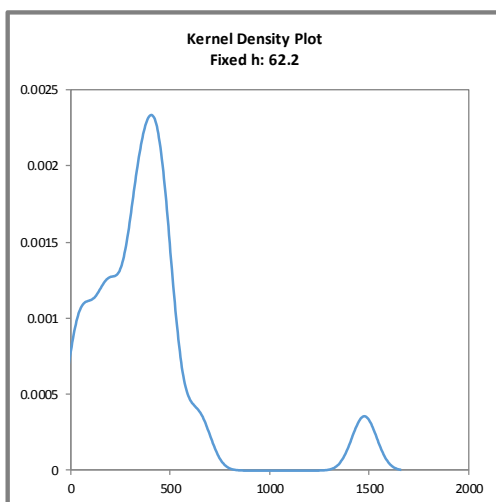
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

**Abb. / Fig. 8:**

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 breiten Schulter <350 mg/kg und einer kleinen Schulter bei ca. 640 mg/kg, sowie einem Nebenpeak bei etwa 1500 mg/kg, der auf einen Einzelwert oberhalb des Zielbereichs zurück geht.



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

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode AQ</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL}$	$X_{pt}_{METHOD AQ}$
Anzahl der Messergebnisse	18	7
Anzahl der Ausreißer	–	–
Mittelwert	377	571
Median	340	425
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>332</b>	<b>442</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>211</b>	<b>83,5</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>83,0</b>	<b>110</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>166</b>	<b>221</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>498</b>	<b>662</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>2,5</i>	<i>0,76</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	<i>62,2</i>	<i>39,4</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>14</i>	<i>6</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>78</i>	<i>86</i>

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

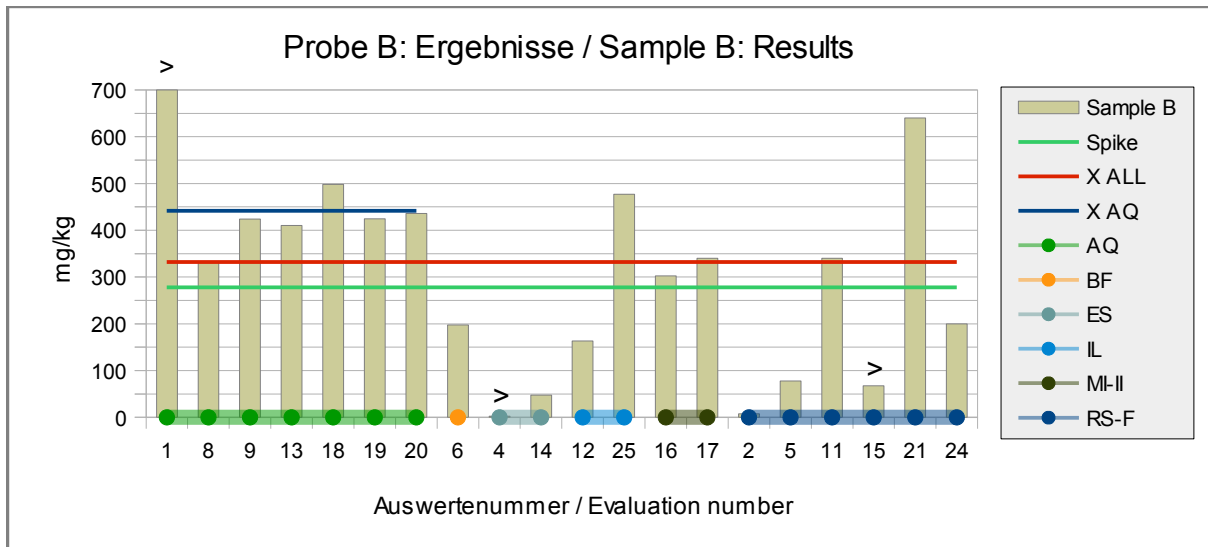
Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

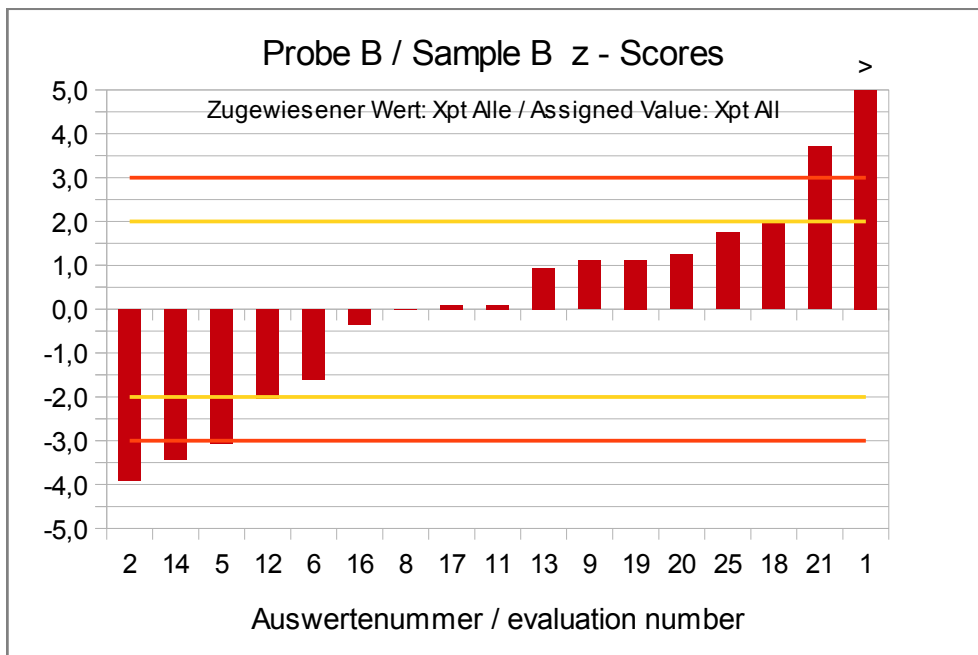
Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden wies eine erhöhte Variabilität mit einem Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  von 2,5 auf. Die Auswertung der Ergebnisse der Methode AQ zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 1,0.

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

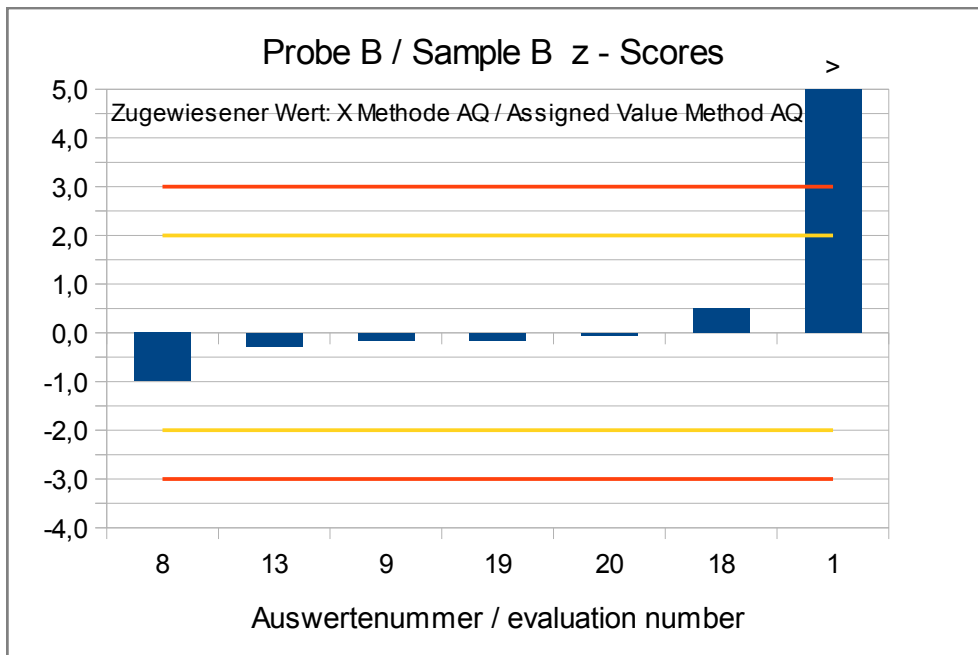
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 119% bzw. 159% vom Zusatzniveau von Casein zu Probe B innerhalb bzw. knapp oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein" S.40).



**Abb./Fig. 9:** ELISA-Ergebnisse Casein  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



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



**Abb./Fig. 11:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein) Bezugswert robuster Mittelwert  
Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score X <sub>pt</sub> <sup>ALL</sup>	z-Score X <sub>pt</sub> <sup>RAQ</sup>	Methode	Hinweis
1	1950		16,6	AQ	Ergebnis für X <sub>pt</sub> <sup>ALL</sup> ausgeschlossen
8	144	-2,1	-2,5	AQ	
9	393	1,2	0,14	AQ	
13	470	2,3	1,0	AQ	
18	311	0,14	-0,72	AQ	
19	356	0,74	-0,24	AQ	
20	346	0,61	-0,35	AQ	
6	117	-2,4		BF	
4	>2,56			ES	Ergebnis umgerechnet °
14		-4,0		ES	
12	16,5			IL	Ergebnis für X <sub>pt</sub> <sup>ALL</sup> ausgeschlossen
25	277	-0,31		IL	
16	268	-0,44		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	250	-0,67		MI-II	
2		-4,0		RS-F	
5	68,3	-3,1		RS-F	
11	370	0,93		RS-F	
15	>67,5			RS-F	
21	610	4,1		RS-F	
24	304	0,05		RS-F	

° Umrechnung S. 20

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

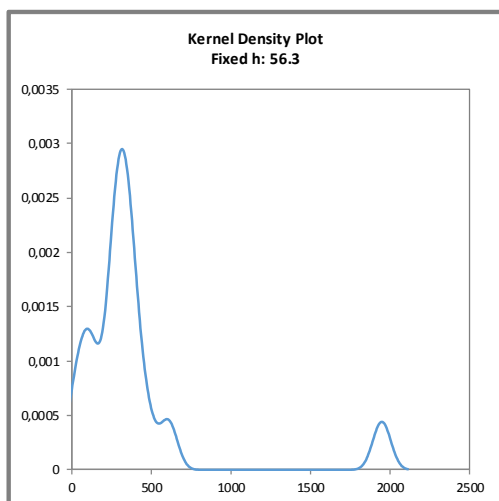
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

ES = ELISA-Systems

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

**Abb. / Fig. 12:**Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  von  $X_{pt}^{ALL}$ )Kernel density plot of all ELISA results (with  $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$  of  $X_{pt}^{ALL}$ )**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit zwei Schultern bei <200 mg/kg und ca. 600 mg/kg sowie einem Nebenpeak bei ca. 2000 mg/kg, der auf einen Einzelwert außerhalb des Zielbereiches zurückgehen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein****Dotierungsniveauprobe**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode AQ</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$	$X_{pt\_METHOD\ AQ}$
Anzahl der Messergebnisse <sup>°</sup>	14	7
Anzahl der Ausreißer	2	–
Mittelwert	306	567
Median	307	356
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>300</b>	<b>379</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>140</b>	<b>170</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>75,1</b>	<b>94,8</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>150</b>	<b>190</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>451</b>	<b>569</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>1,9</i>	<i>1,8</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	<i>46,8</i>	<i>80,5</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>9</i>	<i>5</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>64</i>	<i>71</i>

<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 1 und 12 bei  $X_{ptALL}$  (vorab ausgeschlossen)

**Methoden:**

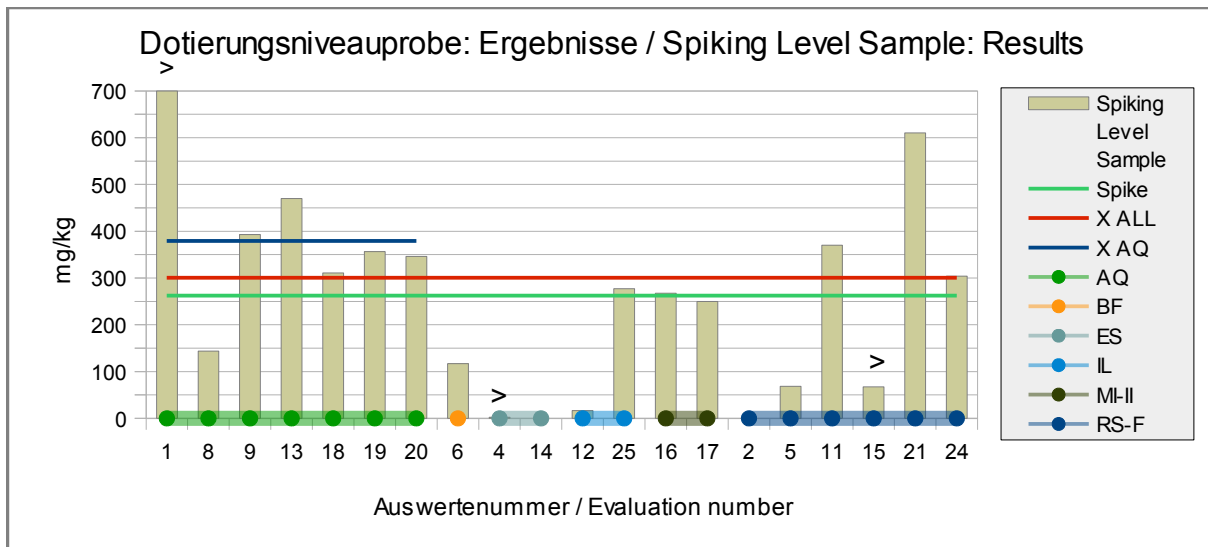
AQ = AgraQuant, RomerLabs

**Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:**

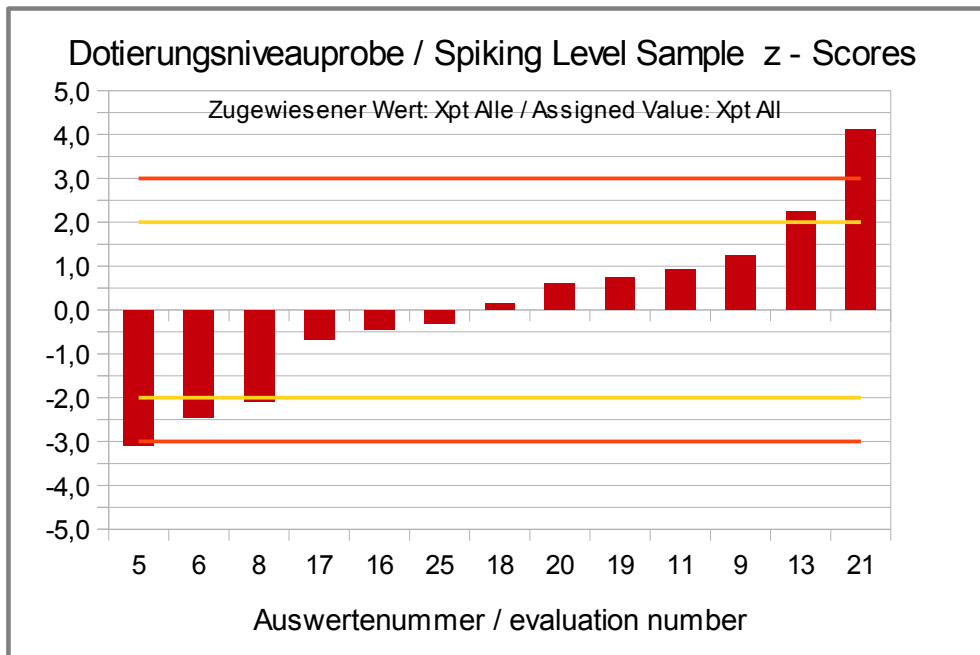
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

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

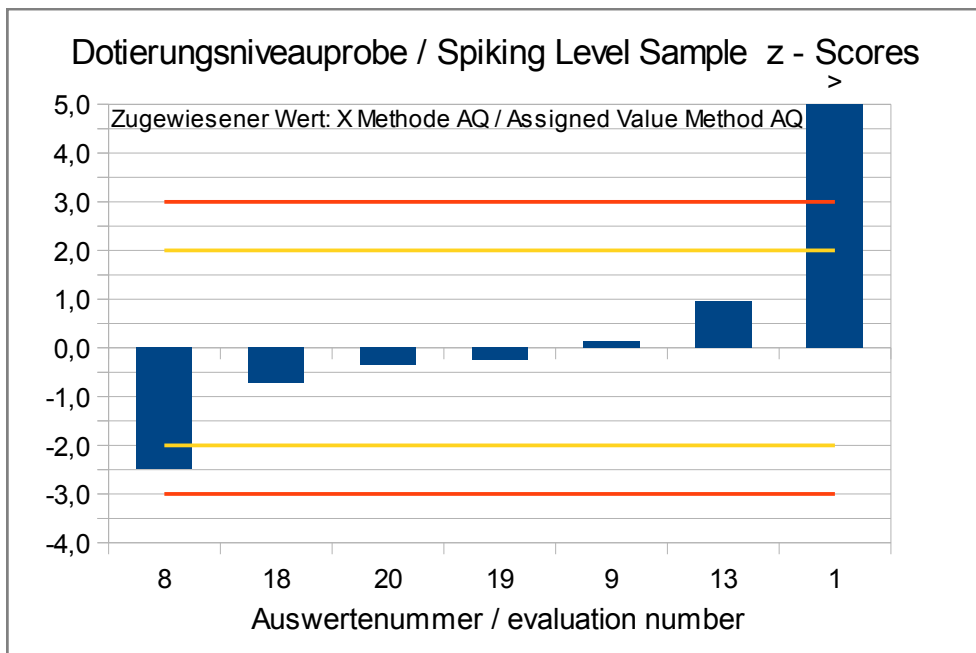
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 115% bzw. 145% vom Zusatzniveau von Casein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Casein", s. S.40).



**Abb./Fig. 13:** ELISA-Ergebnisse Casein  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 14:** z-Scores (ELISA-Ergebnisse Casein)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 15:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Casein)  
 Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
1	1950	744	1475	531	AQ	
8	144	<b>55</b>	332	<b>119</b>	AQ	
9	393	<b>150</b>	424	153	AQ	
13	470	179	410	<b>147</b>	AQ	
18	311	<b>119</b>	498	179	AQ	
19	356	<b>136</b>	425	153	AQ	
20	346	<b>132</b>	436	157	AQ	
6	117	45	198	<b>71</b>	BF	
4	>2,56		>2,56		ES	Ergebnis umgerechnet °
14			47,7	17	ES	
12	16,5	6,3	163	<b>59</b>	IL	
25	277	<b>106</b>	477	172	IL	
16	268	<b>102</b>	302	<b>109</b>	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
17	250	<b>95</b>	340	<b>122</b>	MI-II	
2			7,90	2,8	RS-F	
5	68,3	26	77,4	28	RS-F	
11	370	<b>141</b>	340	<b>122</b>	RS-F	
15	>67,5		>67,5		RS-F	
21	610	233	640	230	RS-F	
24	304	<b>116</b>	200	<b>72</b>	RS-F	

° Umrechnung S. 20

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>10</b>	Anzahl im AB	<b>8</b>
Prozent im AB	<b>63</b>	Prozent im AB	<b>44</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

ES = ELISA-Systeme

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

Anmerkung:

63% (10) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 44% (8) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.



**4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Milch (als Milchprotein)**

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
6	negativ	0	positiv	316	2/2 (100%)	BF	Ergebnis umgerechnet °; Methode Caseinspezifisch
25	negativ	0	positiv	263	2/2 (100%)	IL	
22	negativ		positiv	33,0	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
24	negativ	<2,5	positiv	261	2/2 (100%)	RS-F	
4	negativ	<0,825	positiv	>8,25	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
7	negativ		positiv	>25,0	2/2 (100%)	VT	
14	negativ	<LOD	positiv	518	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 20

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

**Methoden:**

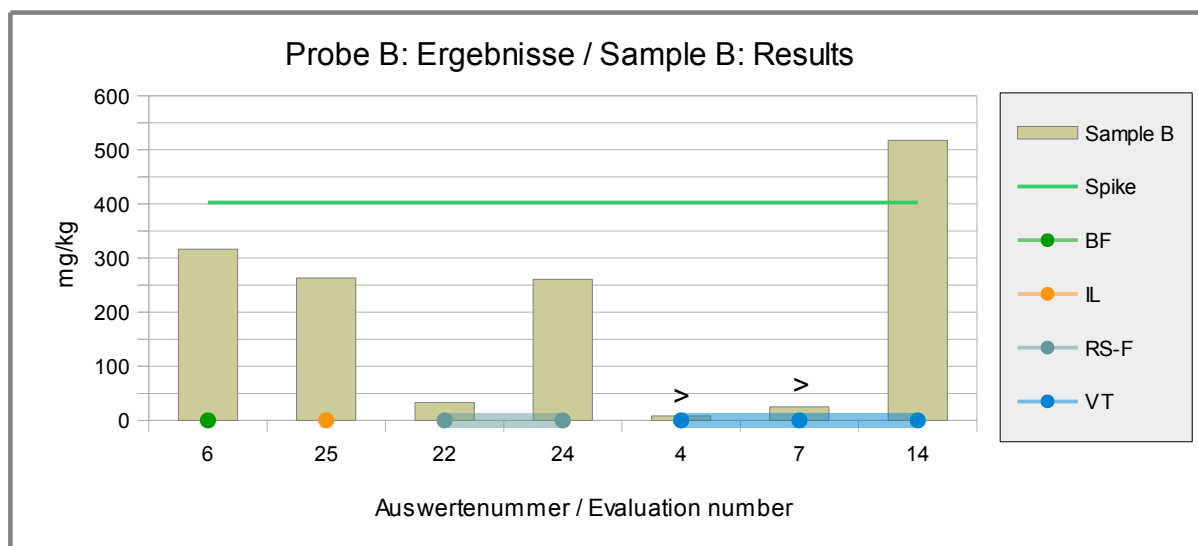
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 IL = Immunolab  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil nur wenige, stark inhomogene Ergebnisse vorlagen.



**Abb./Fig. 16:** ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**(Quantitative) Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe**

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

Auswertenummer	Milchprotein pos/neg	Milchprotein [mg/kg]	z-Score X <sub>pt</sub> ALL	Methode	Hinweis
6	positiv	189		BF	Ergebnis umgerechnet °; Methode Caseinspezifisch
25	positiv	191		IL	
22	positiv	29,7		RS-F	Ergebnis umgerechnet °
24	positiv	350		RS-F	
4	positiv	>8,25		VT	Ergebnis umgerechnet °
7				VT	
14				VT	

° Umrechnung S. 20

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

**Methoden:**

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

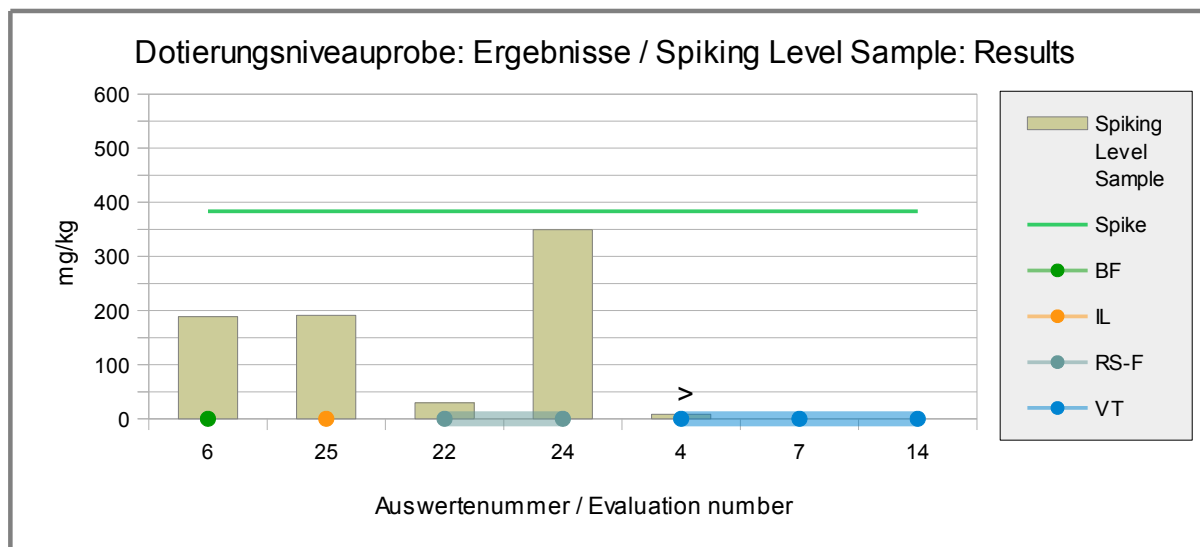
IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Es wurden ausschließlich positive Ergebnisse für die Dotierungsniveauprobe erhalten.



**Abb./Fig. 17:** ELISA-Ergebnisse Milch (als Milchprotein)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten ELISA für Milch (als Milchprotein):  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
6	189	49	316	<b>79</b>	BF	Ergebnis umgerechnet °; Methode Caseinspezifisch
25	191	<b>50</b>	263	<b>65</b>	IL	
22	29,7	7,8	33,0	8,2	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
24	350	<b>91</b>	261	<b>65</b>	RS-F	
4	>8,25		>8,25		VT	Ergebnis umgerechnet °
7			>25,0		VT	
14			518	<b>129</b>	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 20

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>2</b>	Anzahl im AB	<b>4</b>
Prozent im AB	<b>50</b>	Prozent im AB	<b>80</b>

**Methoden:**

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

2 von 4 Teilnehmern haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 80% (4) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Weizen (Gluten / Weizen)

#### 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

##### Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]			
23	negativ	<LOD	positiv	83,7	2/2 (100%)	AQ	
1	positiv	9	positiv	68,0	1/2 (50%)	AQ-G12	
18a	positiv	<4	positiv	44,0	1/2 (50%)	AQ-G12	
20	positiv	<LOQ	positiv	31,0	1/2 (50%)	AQ-G12	
6	negativ	<ROQ	positiv	45,5	2/2 (100%)	BF	
17a	negativ	<3,12	positiv	66,0	2/2 (100%)	EF-R5	
12	negativ	<4,0	positiv	124	2/2 (100%)	IL	
25	negativ	0	positiv	55,0	2/2 (100%)	IL	
2	negativ		positiv	32,3	2/2 (100%)	RS	
3	negativ	< 5,0	positiv	54,8	2/2 (100%)	RS	
4a	negativ	<5	positiv	48,0	2/2 (100%)	RS	
7	negativ		positiv	38,5	2/2 (100%)	RS	
8	negativ	<5	positiv	48,5	2/2 (100%)	RS	
9	negativ		positiv	55,4	2/2 (100%)	RS	
11	negativ		positiv	44,0	2/2 (100%)	RS	
13	negativ	<5,0	positiv	66,0	2/2 (100%)	RS	
15	negativ		positiv	46,5	2/2 (100%)	RS	
16	negativ		positiv	31,7	2/2 (100%)	RS	
17b	negativ	<5	positiv	47,0	2/2 (100%)	RS	
18b	positiv	<5	positiv	57,0	1/2 (50%)	RS	
19	negativ	< 5	positiv	37,6	2/2 (100%)	RS	
21	negativ	<10	positiv	39,0	2/2 (100%)	RS	
22	negativ		positiv	60,0	2/2 (100%)	RS	
24	negativ	<5	positiv	57,6	2/2 (100%)	RS	
5	negativ	1,31	positiv	35,5	2/2 (100%)	RS-F	Probe A: positives Ergebnis >LOD
4b	negativ	<2,5	positiv	>20	2/2 (100%)	RS-FS	
14	negativ	<LOD	positiv	44,9	2/2 (100%)	VT-R5	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	4	27
Anzahl negativ	23	0
Prozent positiv	15	100
Prozent negativ	85	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 AQ-G12 = AgraQuant G12, RomerLabs  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins  
 IL = Immunolab  
 RS = Ridascreen®, R-Biopharm  
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 RS-FS = Ridascreen® Fast sensitive, R-Biopharm  
 VT-R5 = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Für Probe A wurden vier positive Ergebnisse im Bereich < 10 mg/kg erhalten.

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>RS</sub>	Methode	Hinweis
23	83,7	2,7		AQ	
1	68,0	1,5		AQ-G12	
18a	44,0	-0,47		AQ-G12	
20	31,0	-1,5		AQ-G12	
6	45,5	-0,35		BF	
17a	66,0	1,3		EF-R5	
12	124	6,0		IL	
25	55,0	0,42		IL	
2	32,3	-1,4	-1,3	RS	
3	54,8	0,40	0,60	RS	
4a	48,0	-0,15	0,03	RS	
7	38,5	-0,91	-0,77	RS	
8	48,5	-0,11	0,07	RS	
9	55,4	0,45	0,65	RS	
11	44,0	-0,47	-0,31	RS	
13	66,0	1,3	1,5	RS	
15	46,5	-0,27	-0,10	RS	
16	31,7	-1,5	-1,3	RS	
17b	47,0	-0,23	-0,06	RS	
18b	57,0	0,58	0,78	RS	
19	37,6	-1,0	-0,8	RS	
21	39,0	-0,87	-0,73	RS	
22	60,0	0,82	1,0	RS	
24	57,6	0,63	0,84	RS	
5	35,5	-1,1		RS-F	
4b	>20			RS-FS	
14	44,9	-0,39		VT-R5	

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-G12 = AgraQuant G12, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

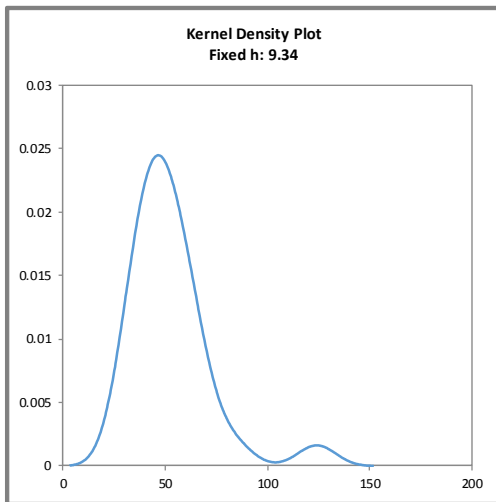
IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

RS-FS= Ridascreen® Fast sensitive, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 18:**

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

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

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einem Nebenpeak bei ca. 125 mg/kg (Methode IL), der auf einen Einzelwert außerhalb des Zielbereiches zurückzuführen ist.

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

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$	$X_{pt\_METHOD\ RS}$
Anzahl der Messergebnisse	26	16
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	52,4	47,7
Median	47,5	47,5
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>49,8</b>	<b>47,7</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>13,9</b>	<b>11,4</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>12,5</b>	<b>11,9</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>24,9</b>	<b>23,8</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>74,7</b>	<b>71,5</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,1	0,95
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	3,40	3,55
Ergebnisse im Zielbereich	24	16
Prozent im Zielbereich	92	100

**Methode:**

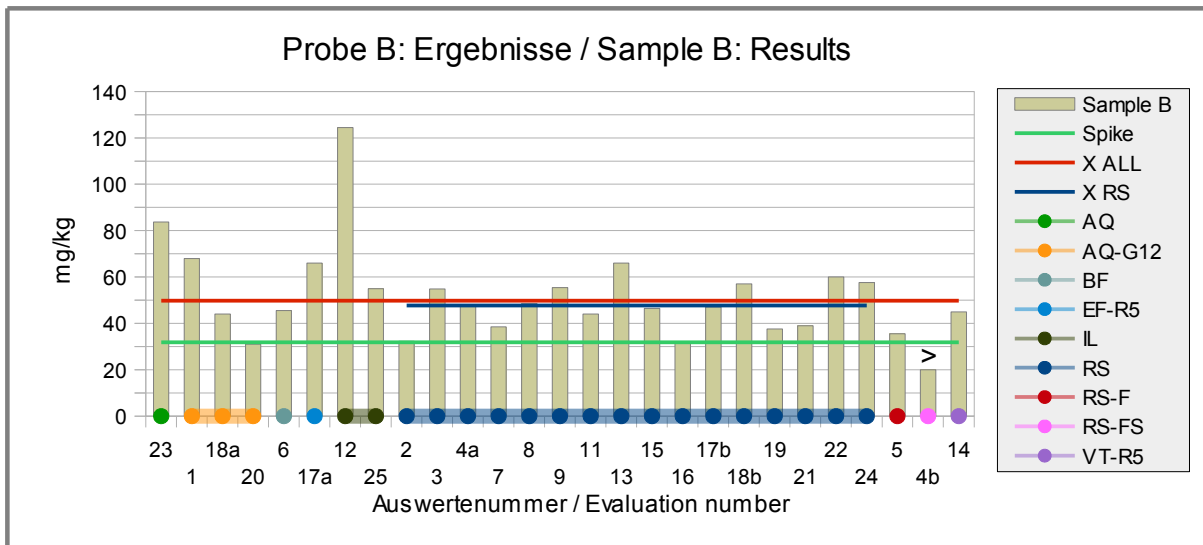
RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

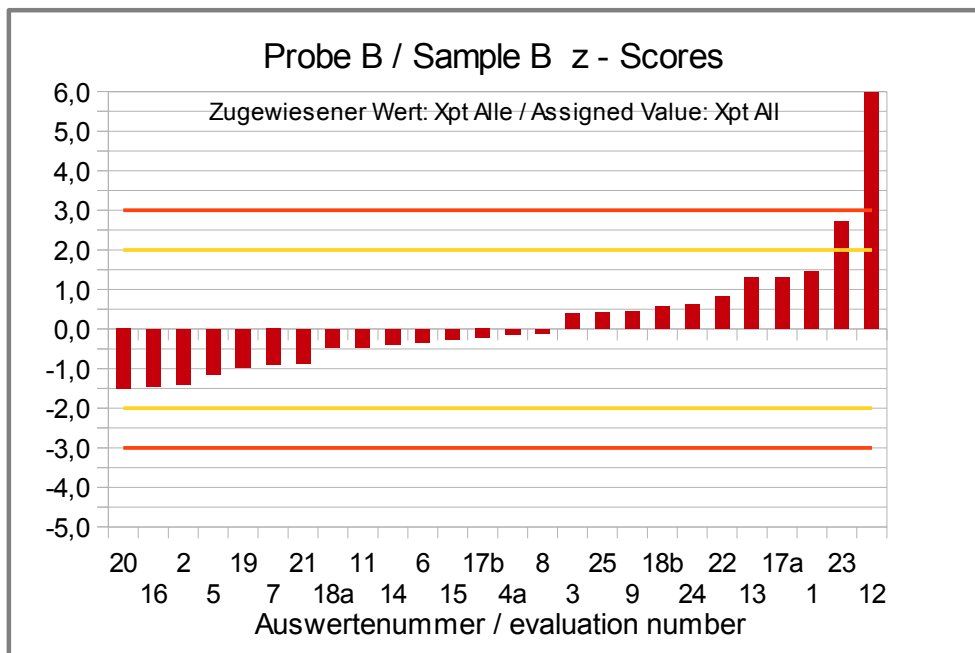
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag jeweils 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.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 156% bzw. 149% vom Zusatzniveau von Gluten zu Probe B an der oberen Grenze der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Gluten" S.55).

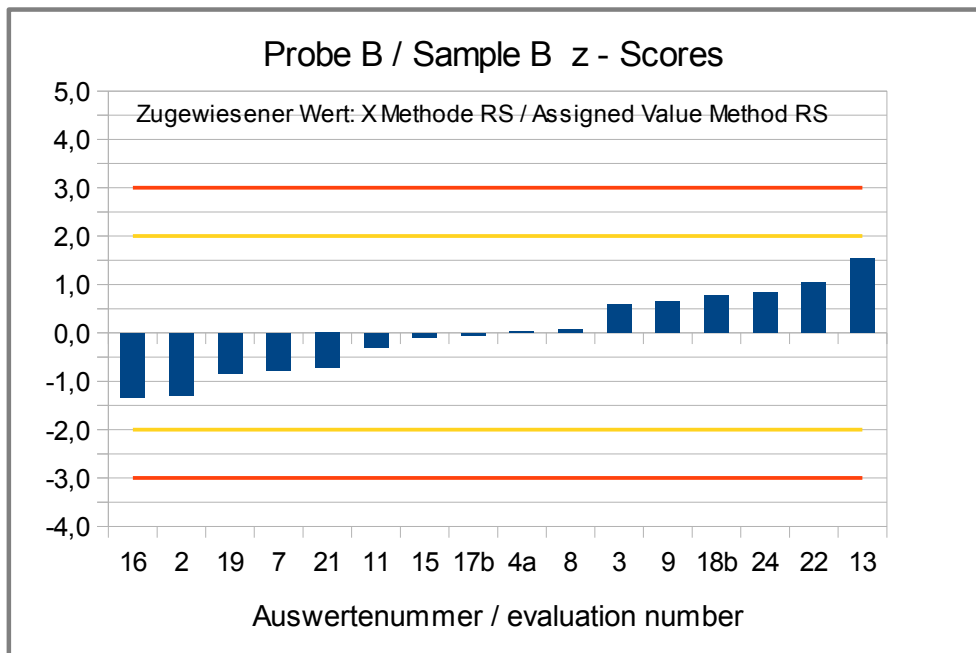


**Abb./Fig. 19:** ELISA-Ergebnisse Gluten  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 20:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse





**Abb./Fig. 21:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Gluten)

Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS (R-Biopharm, Ridascreen)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>RS</sub>	Methode	Hinweis
23	127	5,4		AQ	
1	39,1	-1,1		AQ-G12	
18a	37,0	-1,3		AQ-G12	
20	29,0	-1,9		AQ-G12	
6	53,4	-0,05		BF	
17a	66,0	0,88		EF-R5	
12	209	11,5		IL	
25	88,0	2,5		IL	
2				RS	
3	63,5	0,69	0,84	RS	
4a	49,0	-0,38	-0,26	RS	
7	38,0	-1,2	-1,1	RS	
8	49,3	-0,36	-0,24	RS	
9	51,6	-0,19	-0,06	RS	
11	44,0	-0,75	-0,64	RS	
13	74,0	1,5	1,6	RS	
15	61,2	0,52	0,67	RS	
16	33,9	-1,5	-1,4	RS	
17b	48,0	-0,45	-0,34	RS	
18b	71,0	1,2	1,4	RS	
19	48,4	-0,42	-0,31	RS	
21	40,0	-1,0	-0,95	RS	
22	50,0	-0,30	-0,19	RS	
24	66,0	0,88	1,0	RS	
5	44,6	-0,70		RS-F	
4b	>20			RS-FS	
14				VT-R5	

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-G12 = AgraQuant G12, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

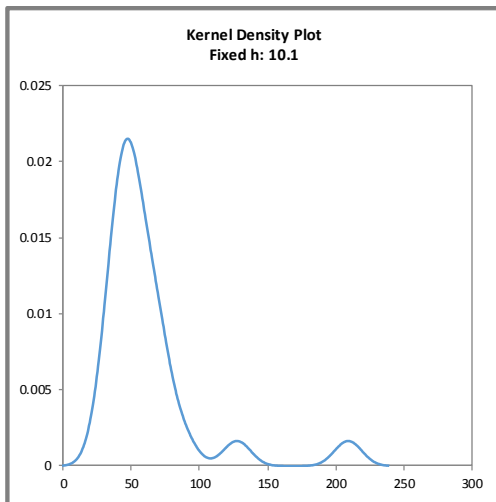
IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

RS-FS= Ridascreen® Fast sensitive, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 22:**

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 zwei Nebenpeaks bei ca. 130 mg/kg bzw. 210 mg/kg, die auf Einzelwerte zurückgeht außerhalb des Zielbereiches zurückgehen (Methode AQ und IL).

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Gluten****Dotierungsniveauprobe**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$	$X_{pt\_METHOD\ RS}$
Anzahl der Messergebnisse	24	15
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	61,7	52,5
Median	49,7	49,3
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>54,1</b>	<b>52,4</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>17,6</b>	<b>13,5</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>13,5</b>	<b>13,1</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>27,1</b>	<b>26,2</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>81,2</b>	<b>78,7</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>1,3</i>	<i>1,0</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U_{(X_{pt})}</math></i>	<i>4,49</i>	<i>4,35</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>21</i>	<i>15</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>88</i>	<i>100</i>

**Methoden:**

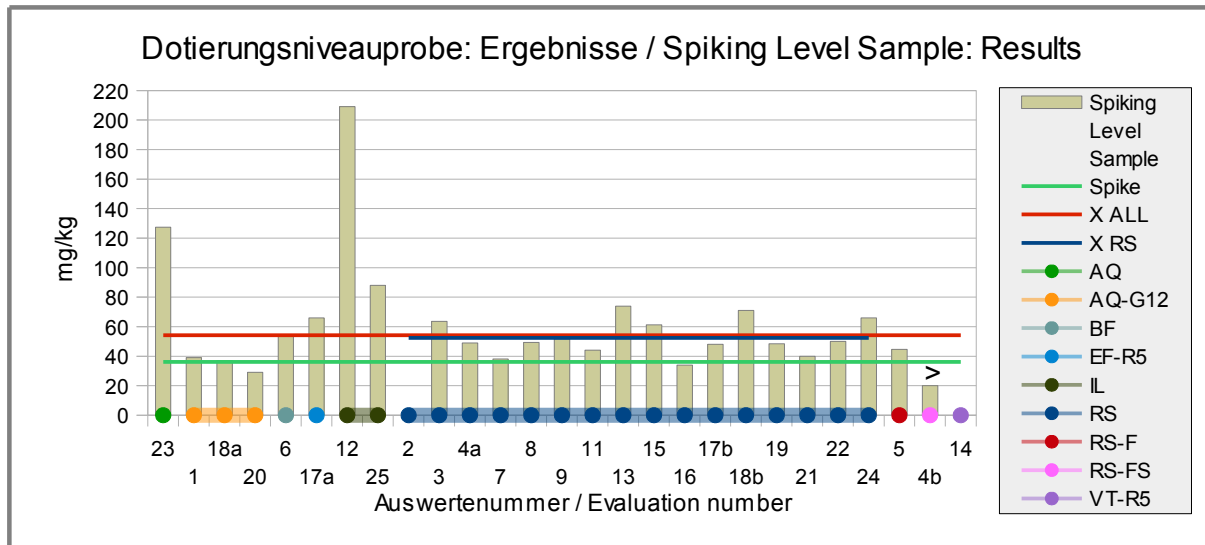
RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

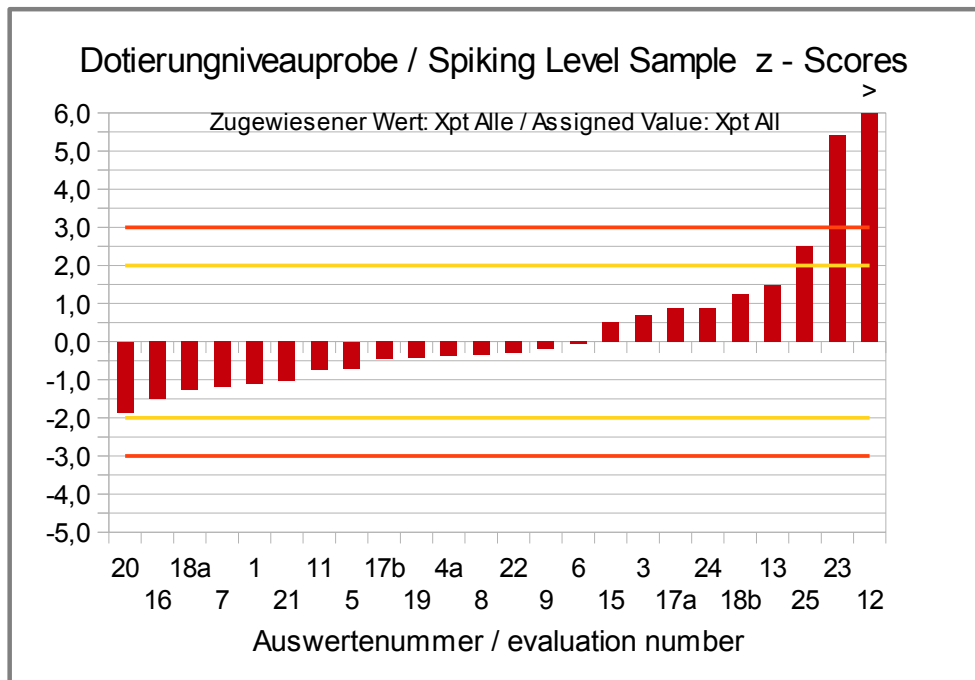
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

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

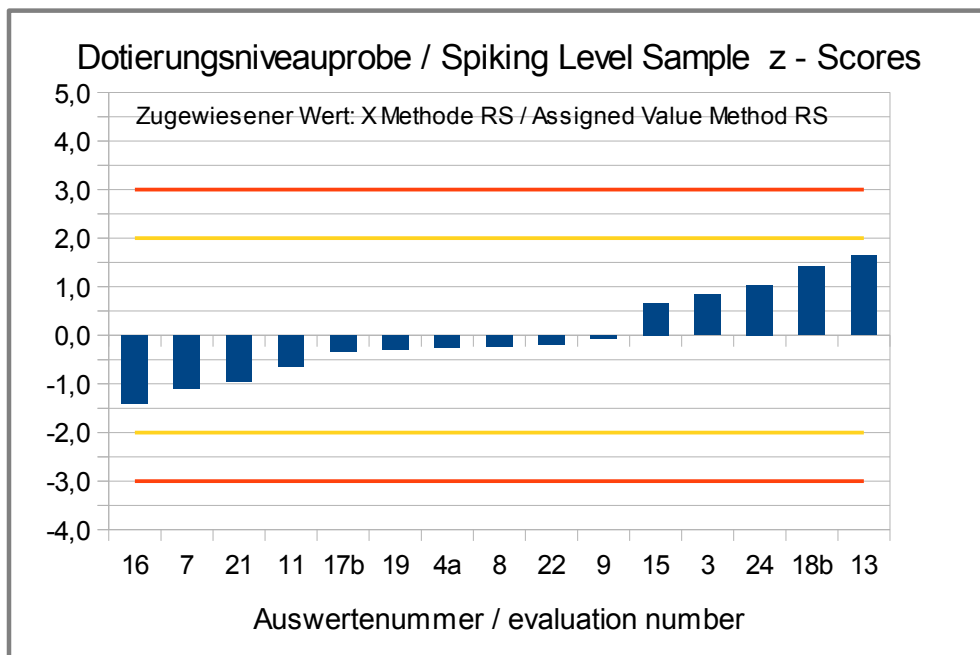
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 149% bzw. 145% vom Zusatzniveau von Gluten zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten für Gluten", s. S.55).



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



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



**Abb./Fig. 25:**

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

**Wiederfindungsraten ELISA für Gluten:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
23	127	352	83,7	262	AQ	
1	39,1	<b>108</b>	68,0	213	AQ-G12	
18a	37,0	<b>102</b>	44,0	<b>138</b>	AQ-G12	
20	29,0	<b>80</b>	31,0	<b>97</b>	AQ-G12	
6	53,4	<b>148</b>	45,5	<b>143</b>	BF	
17a	66,0	182	66,0	207	EF-R5	
12	209	578	124	390	IL	
25	88,0	243	55,0	172	IL	
2			32,3	<b>101</b>	RS	
3	63,5	175	54,8	172	RS	
4a	49,0	<b>135</b>	48,0	<b>150</b>	RS	
7	38,0	<b>105</b>	38,5	<b>121</b>	RS	
8	49,3	<b>136</b>	48,5	152	RS	
9	51,6	<b>143</b>	55,4	174	RS	
11	44,0	<b>122</b>	44,0	<b>138</b>	RS	
13	74,0	204	66,0	207	RS	
15	61,2	169	46,5	<b>146</b>	RS	
16	33,9	<b>94</b>	31,7	<b>99</b>	RS	
17b	48,0	<b>133</b>	47,0	<b>147</b>	RS	
18b	71,0	196	57,0	179	RS	
19	48,4	<b>134</b>	37,6	<b>118</b>	RS	
21	40,0	<b>110</b>	39,0	<b>122</b>	RS	
22	50,0	<b>138</b>	60,0	188	RS	
24	66,0	182	57,6	181	RS	
5	44,6	<b>123</b>	35,5	<b>111</b>	RS-F	
4b	>20		>20		RS-FS	
14			44,9	<b>141</b>	VT-R5	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>15</b>	Anzahl im AB	<b>14</b>
Prozent im AB	<b>63</b>	Prozent im AB	<b>54</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-G12 = AgraQuant G12, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

RS-FS= Ridascreen® Fast sensitive, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen

Anmerkung:

63% (15) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 54% (14) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

**4.3.2 PCR-Ergebnisse: Weizen**

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B**

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Dotierung		
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-ID	

	Probe A	Probe B
Dotierung	negativ	positiv

**Methoden:**

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

Anmerkung:

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

**Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Gluten	Gluten	z-Score X <sub>pt</sub> ALL	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
15	positiv			SFA-ID	

Dotierungsniveauprobe	
Dotierung	positiv

**Methoden:**

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

Anmerkung:

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



## 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: $\beta$ -Lactoglobulin

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel / Protein	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	1	24.04.19	-	<LOD	-	18,65	-	18,76	0,0015	0,01		beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA $\beta$ -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
AQ	18	08.04.19	negativ	<LOD	positiv	18	positiv	16	0,0015	0,01	50	beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA $\beta$ -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
AQ	20	05.04.19	negativ	< LOD	positiv	16	positiv	16,1	0,0015	0,01	50	beta-Lactoglobulin	AgraQuant ELISA $\beta$ -Lactoglobulin COLAL1048, RomerLabs
ES	4		negativ	<0,1	positiv	>1	positiv	>1		0,1		beta-Lactoglobulin	ELISA Systems Beta-Lactoglobulin ESMRDLG-48
ES	13	11.04.19	negativ	<0.10	positiv	98	positiv	93		0.10		beta-Lactoglobulin	ELISA Systems Beta-Lactoglobulin ESMRDLG-48
ES	14	09.04.19	Negativ	<LOD	Pos	136,8	-	nicht getestet	0,05	0,1		Beta-Lactoglobulin	ELISA Systems - Beta-lactoglobulin
IL	12		negativ	<0,01	positiv	207,3	positiv	14,5	0,0015	0,01		beta-Lactoglobulin	Immunolab Beta-Lactoglobulin ELISA
IL	25	21.03.19	negativ	0	positiv	14,2	positiv	12,9				beta-Lactoglobulin	Immunolab Beta-Lactoglobulin ELISA
MI-II	16	20.03.19	negativ		positiv	325,4	positiv	310		0,31		Gesamtmilchprotein	Morinaga Beta-lactoglobulin ELISA Kit II (M2112)
MI-II	17	22.03.	negativ	<0,031	positiv	32	positiv	31	0,031	0,031		beta-Lactoglobulin	Morinaga Beta-lactoglobulin ELISA Kit II (M2112)
RS	10	11.04.19	negativ	<2.63	positiv	36,4	positiv	28,9	0,79	2,63	31	beta-Lactoglobulin	Ridascreen® $\beta$ -Lactoglobulin R4901, R-Biopharm
RS-F	2		negativ		positiv	10	-					beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	5	24/04	negativ	0,07339	positiv	4,56484	positiv	4,53287	0,04	0,167		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	8	18.04.19	negativ	<1.5	positiv	36	positiv	36,7				beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	9	17.04.19	negativ		positiv	29,1	positiv	33,8	0,5	0,5		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	11	22.03.19	negativ		positiv		positiv		0,2	0,5		Please select!	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm
RS-F	15		negativ		positiv	> 4,5	positiv	> 4,5		0,17		Please select!	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4912, R-Biopharm
RS-F	21	04.02.19	negativ	<0,2	positiv	>4,5	positiv	>4,5	0,2	0,2	-	beta-Lactoglobulin	
RS-F	24	05.04.19	negativ	<0,167	positiv	18,87	positiv	29,71		<0,167		beta-Lactoglobulin	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4902, R-Biopharm

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA  $\beta$ -Lactoglobulin:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	1	polyclonal	1.0g Probe + 20ml verdünnter Extraktionspuffer. 15 min im 60°C Wasserbad schütteln. 10Min zentrifugieren.	ja	
AQ	18	Beta-Lactoglobulin		ja	
AQ	20	Beta-Lactoglobulin	wässriger Puffer 60°C/15 Minuten Orbitalshaker	nein	
ES	4			nein	
ES	13			ja	
ES	14		Extraktion: Raumtemperatur PBS Puffer (ph Kontrolle)/für 15 min bei 60°C schütteln im Wasserbad/ Bestimmung: 4-Parameter-Kurve	ja	
IL	12				
IL	25				
MI-II	16				
MI-II	17	erkennt Kuhmilch- $\beta$ -Lactoglobulin	lt. Herstellerangaben	ja	
RS	10	Anti-BLG	Waschpuffer, 10 Minuten, 50°C	nein	
RS-F	2			ja	
RS-F	5		Extraktionslösung: Extraktor 2 + Allergenextraktionspuffer mit Additiv 1, Zeit: ca. 30 min., Temperatur: 100 ° C		
RS-F	8			ja	
RS-F	9	beta-Lactoglobulin		ja	Hinweis: Artikelnr. ist jetzt R4912
RS-F	11	spezifische Antikörper gegen $\beta$ -lactoglobulin	Wiege 1 g Probe ein und gebe 4 ml vorbereiteten Extraktor 2 zu, kräftig mischen, Vial verschließen und 10 min bei 100 ° C im Wasserbad kochen, Probe kurz abkühlen lassen, A-AEP auf 60 ° C vorheizen, 16 ml erhitzen (60 ° C ) A-AEP zur gekochten Probe geben. Kräftig mischen ( 10 min bei 60 ° C im Wasserbad extrahieren), abkühlen lassen, 10 min bei hoher Geschwindigkeit in einer Mikrozentrifuge zentrifugieren. Den partikelfreien Überstand 1: 5 (1 + 4) mit verdünntem Allergenextraktionspuffer ohne Zusatz 1 verdünnen	nein	
RS-F	15			ja	
RS-F	21	$\beta$ -Lactoglobulin von Kuhmilch	Extraktor 2+A-AEP/90 min/20-25°C	ja	Ridascreen® FAST $\beta$ -Lactoglobulin R4912, R-Biopharm
RS-F	24			nein	Die Probe agglutiniert und bildet eine Paste. Sie wiegt ein Zehntel des üblichen. Es kann viele Unsicherheiten geben

**5.1.2 ELISA: Casein**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	1	25.04.19	-	<LOD	-	1475	-	1950	0,04	0,2		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	8	15.04.19	negativ	<1.5	positiv	332	positiv	144				Casein	AgraQuant Plus Casein COKAL 1248F, RomerLabs
AQ	9	20.03.19	negativ		positiv	424	positiv	393	0,2	0,2		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	13	11.04.19	negativ	<0.20	positiv	410	positiv	470		0.20		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	18	27.03.19	negativ	<LOD	positiv	498	positiv	311	0,04	0,2	40	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	19		negativ	< 0,2	positiv	424,64	positiv	356,29	0,04	0,2		Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ	20	05.04.19	negativ	< LOD	positiv	436	positiv	346	0,04	0,2	40	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
BF	6	25/04	negativ	0	positiv	197,6	positiv	116,7	0,12	0,5		Casein	MonoTrace Milk (Casein) ELISA kit, BioFront Technologies
ES	4		negativ	<1	positiv	>10	positiv	>10		1		Magermilchpulver	ELISA Systems Casein ESCASPRD-48
ES	14	09.04.19	Negativ	<LOD	Pos	47,7	-	nicht getestet	0,14	0,28		Gesamtcasein	ELISA Systems - Casein
IL	12		negativ	<0,2	positiv	163,2	positiv	16,5	0,04	0,2		Casein	Immunolab Casein ELISA
IL	25	21.03.19	negativ	0	positiv	477	positiv	277				Casein	Immunolab Casein ELISA
MI-II	16	20.03.19	negativ		positiv	378,1	positiv	334,5		0,31		Gesamtmilchprotein	Morinaga Casein ELISA Kit II (M2113)
MI-II	17	22.03.	negativ	<0,25	positiv	340	positiv	250	0,25	0,25		Casein	Morinaga Casein ELISA Kit II (M2113)
RS-F	2		negativ		positiv	7,9	-					Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	5	24/04	negativ	0,49419	positiv	77,4409	positiv	68,2876	0,71	2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	11	23.04.19	negativ		positiv	340	positiv	370	1	2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	15		negativ		positiv	>67,5	positiv	>67,5		2,5			Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	21	04.02.19	negativ	<3,0	positiv	640	positiv	610	3	3	-	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F	24	04.04.19	negativ	<2,5	positiv	199,87	positiv	303,99		<2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung *ELISA Casein*:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	1	polyclonal	0,5g Probe +10ml vorverdünnter und erhitzter Extraktionspuffer. 15 min schütteln. 10 min zentrifugieren.	ja	
AQ	8			ja	
AQ	9	Casein		ja	
AQ	13			ja	
AQ	18	Casein		ja	
AQ	19	Casein	Extraktionslösung, 15 min bei 60°C, 1:500 Verdünnung	nein	
AQ	20	Casein	w ässriger Puffer/15 Minuten/60°C	nein	
BF	6	Moneinlonal Antikörper-basierter Assay	1:10 Extraktionsverhältnis/10 Minuten/60°C	nein	
ES	4			nein	
ES	14		Extraktion: Raumtemperatur PBS Puffer (ph Kontrolle)/für 15 min bei 60°C schütteln im Wasserbad/ Bestimmung: 4-Parameter-Kurve	ja	
IL	12				
IL	25				
MI-II	16				
MI-II	17	erkennt Kuhmilch-Casein	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	2			ja	
RS-F	5		Extraktionslösung: Extraktor 2 + Allergenextraktionspuffer mit Additiv 1, Zeit: ca. 30 min., Temperatur: 100 ° C		
RS-F	11	spezifischer Antikörper gegen Casein	1 g Probe entnehmen und 4 ml vorbereiteten Extractor 2 zugeben, kräftig mischen, das Vial verschließen und 10 min bei 100 ° C im Wasserbad kochen. Lassen Sie die Probe kurz abkühlen und geben Sie 16 ml erhitztes (60 ° C) A-AEP zur gekochten Probe. Kräftig mischen (Schüttler) und 10 min bei 60 ° C im Wasserbad extrahieren. Abkühlen, 10 min zentrifugieren / 2500 g und / oder filtrieren. Den partikelfreien Überstand oder das Filtrat 1: 5 (1 + 4) mit verdünntem Allergenextraktionspuffer ohne Zusatz 1 verdünnen	ja	
RS-F	15			ja	
RS-F	21	Casein von Kuhmilch	Extraktor 2+A-AEP/90 min/20-25°C	ja	
RS-F	24			nein	Die Probe agglutiniert und bildet eine Paste. Sie wiegt ein Zehntel des üblichen. Es kann viele Unsicherheiten geben

**5.1.3 ELISA: Milchprotein**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	ELISA Test-Kit + Anbieter
BF	6	25/04	negativ	0	positiv	958,24	positiv	571,83	0,12	0,5		Magemilchpulver	MonoTrace Milk (Casein) ELISA kit, BioFront Technologies
IL	25	21.03.19	negativ	0	positiv	263	positiv	191				Milchproteine, gesamt	Immunolab Milk ELISA
RS-F	22		negativ		positiv	100	positiv	90	1	10	50	Lebensmittel	Ridascreen Fast Milk
RS-F	24	08.04.19	negativ	<2,5	positiv	260,56	positiv	349,57		<2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
VT	4		negativ	<2,5	positiv	>25	positiv	>25		2,5		Magemilchpulver	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	7		negativ		positiv	>25,0	-		2,5			Milchproteine, gesamt	Veratox Total Milk Allergen, Neogen
VT	14	04.04.19	Negativ	<LOD	Pos	1568,7	-	nicht getestet	1	2,5		nicht fette, getrocknete Milch	Neogen Veratox for Total milk

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
BF	6	Monoklonaler Antikörper-basierter Assay	1:10 Extraktionsverhältnis/10 Minuten/60°C	nein	Ergebnisse wurden von Casein zu Milch umgerechnet
IL	25				
RS-F	22			ja	
RS-F	24			nein	Die Probe agglutiniert und bildet eine Paste. Sie wiegt ein Zehntel des üblichen. Es kann viele Unsicherheiten geben
VT	4			ja	
VT	7		Extraktionslösung/15 min./60 °C	ja	
VT	14		Extraktion: 60°C vorerhitzter PBS Puffer//für 15 min bei 60°C schütteln im Wasserbad/ Bestimmung: 4-Parameter-Kurve	ja	

**5.1.4 ELISA: Gluten**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									%	Lebensmittel / Prot	ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	23	16.03.19	-	<LOD	-	83,67	-	127,3	0,6	5	11	Gluten	AgraQuant ELISA Gluten COKAL0248, RomerLabs
AQ	1	24.04.19	-	9	-	68	-	39,1	2	4		Gluten	AgraQuant ELISA Gluten G12 COKAL0200, RomerLabs
AQ	18a	08.04.19	positiv	<4	positiv	44	positiv	37	4	2	40	Gluten	AgraQuant ELISA Gluten G12 COKAL0200, RomerLabs
AQ	20	09.04.19	positiv	< LOQ	positiv	31	positiv	29	2	4	40	Gluten	AgraQuant ELISA Gluten G12 COKAL0200, RomerLabs
BF	6	25/04	negativ	bROQ	positiv	45,5	positiv	53,4	0,36	2			MonoTrace Gluten ELISA kit, BioFront Technologies
EF-R5	17a	28.3.	negativ	<3,12	positiv	66	positiv	66	3,12	3,12		Gluten	SENSISpec Ingezim Gluten R5 30.GLU.K2, Eurofins
IL	12		negativ	<4,0	positiv	124,4	positiv	209,1	0,3	2		Gluten	Immunolab Gliadin/Gluten ELISA
IL	25	08.04.19	negativ	0	positiv	55	positiv	88				Gluten	Immunolab Gliadin/Gluten ELISA
RS	2		negativ		positiv	32,3	-					Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	3	15.04.19	negativ	< 5,0	positiv	54,8	positiv	63,5				Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	4a		negativ	<5	positiv	48	positiv	49		5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	7		negativ		positiv	38,5	positiv	38	5			Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	8	08.05.19	negativ	<5	positiv	48,5	positiv	49,3				Gluten	Ridascreen® Gliadin r-biopharm R7001
RS	9	10.04.19	negativ		positiv	55,4	positiv	51,6	5	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	11	27.03.19	negativ		positiv	44	positiv	44	2	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	13	11.04.19	negativ	<5.0	positiv	66	positiv	74		5.0		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	15		negativ		positiv	46,5	positiv	61,2		5			Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	16	21.03.19	negativ		positiv	31,7	positiv	33,9		5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	17b	22.03.	negativ	<5	positiv	47	positiv	48	3	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	18b	03.04.19	positiv	<5	positiv	57	positiv	71	5	1	50	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	19		negativ	< 5	positiv	37,62	positiv	48,42	1	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	21	04.02.19	negativ	<10	positiv	39	positiv	40	10	10	28	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	22		negativ		positiv	60	positiv	50	2	20	50	Lebensmittel	Ridascreen Gluten
RS	24	29.03.19	negativ	<5	positiv	57,62	positiv	66,02		<5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS-F	5	24/04	negativ	1,30976	positiv	35,5324	positiv	44,6136	1	10		Gluten	Ridascreen® FAST Gliadin R7002, R-Biopharm
RS-FS	4b	25.04.2019	negativ	<2,5	positiv	>20	positiv	>20		2,5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7051, R-Biopharm
VT-R5	14	02.04.19	Negativ	<LOD	Pos	44,9	-	nicht getestet	4,3	5		Gluten	Neogen Veratox for Gliadin R5

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung *ELISA Gluten:*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	23				
AQ	1	monoclonal	0.25g Probe + 2.5ml Extraktionslösung. Inkubieren bei 50°C für 40min. Abkühlen lassen und Zugabe von 7.5ml 80% Ethanol. 60min schütteln abei Raumtemperatur. 10 min zentrifugieren.	ja	
AQ	18a	Gluten		ja	
AQ	20	Gluten	Extraktionspuffer/40 Minuten 50°C/Ethanol/60 Minuten Orbitalshaker	nein	
BF	6	Monoclonaler Antikörper basierter Assay	1:40 Extraktionsverhältnis in MonoTrace Gluten Extraktionpuffer/1 Stunde/60°C	nein	
EF-R5	17a	Mendez R5	lt. Herstellerangaben	ja	
IL	12				
IL	25				
RS	2			ja	
RS	3	Monoclonal R5	80% Ethanol / 1h / Raumtemperatur	ja	LAB_AR Ergebnisse
RS	4a	R5		ja	
RS	7		monoclonaler Antikörper R5	ja	
RS	8			ja	
RS	9	Gliadine (R5-Antikörper)		ja	
RS	11	spezifischer R5 Antikörper gegen Gliadin	Man wiegt 0,25 g der homogenisierten Probe ein und fügt 2,5 ml der Cocktail-Lösung hinzu, verschließt das Vial und mischt gut. Man inkubiert für 40 Minuten bei 50 ° C, lässt die Probe abkühlen und mischt sie dann mit 7,5 ml 80% Ethanol. Man verschließt das Vial und schüttelt es 1 Stunde lang mit der Oberseite nach unten oder in Rotation bei Raumtemperatur. Zentrifugation: 10 min, mindestens 2500 g, bei Raumtemperatur und 2 ml des Extrakts können mit einer Mikrozentrifuge 10 min lang in einem Reaktionsgefäß mit hoher Geschwindigkeit zentrifugiert werden. Der Überstand wird in ein Schraubglas übertragen und die Probe wird 1: 12,5 mit verdünntem Probenverdünnungsmittel verdünnt. Der endgültige Verdünnungsfaktor beträgt 500	ja	
RS	13			ja	
RS	15			ja	
RS	16				
RS	17b	Mendez R5	lt. Herstellerangaben	ja	
RS	18b	Gliadin		ja	
RS	19	Gliadin	Extraktion mit Cocktail-Lösung, und Ethanol, 40 min bei 50°C, 1:500 Verdünnung	nein	
RS	21	R5	Cocktail+Etanol 80%/150min/20-25°C	ja	
RS	22			ja	
RS	24			nein	
RS-F	5	R5	Extraktionslösung: Cocktail (patentiert), Zeit: ca. 2 Stunden, Temperatur: 50 °C		
RS-FS	4b	R5		nein	
VT-R5	14		Extraktion: Inkubation bei 50°C mit Cocktail-Lösung / Zugabe von Ethanol und Schütteln für 1 Stunde bei Raumtemperatur/ Probe ist verdünnt mit PBS vor dem Plattieren/ Bestimmung: 4-Parameter-Kurve	ja	

**5.1.5 PCR: Weizen**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg					
SFA-ID	15		-		positiv		positiv		0,4				Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA-ID	15			nein	



## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 03-2019 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	2,82	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	15,5	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	53	21,2
2	5,07	59	23,3
3	5,00	58	23,2
4	5,03	55	21,9
5	5,06	55	21,7
6	5,09	57	22,4
7	5,06	52	20,6
8	5,02	49	19,5

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	54,7	Partikel
Standardabweichung	3,24	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,34	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>99</b>	%
Wiederfindungsrate	140	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	21,7	mg/kg
Standardabweichung	1,28	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,91	%
Horwitz Standardabweichung	10,1	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,59</b>	
Wiederfindungsrate	140	%

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 03-2019 Dotierungsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,51	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	5,00	82	32,8
2	5,06	84	33,2
3	4,99	83	33,3
4	5,09	96	37,7
5	5,02	85	33,9
6	5,03	82	32,6
7	5,02	81	32,3
8	5,01	77	30,7

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	83,7	Partikel
Standardabweichung	5,05	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	2,13	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>95</b>	%
Wiederfindungsrate	118	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	33,3	mg/kg
Standardabweichung	2,01	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,03	%
Horwitz Standardabweichung	9,44	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,64</b>	
Wiederfindungsrate	118	%

**5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**

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

EP-Nummer	<b>DLA 03-2019</b>
EP-Name	<b>Allergene III: <math>\beta</math>-Lactoglobulin, Casein und Gluten in Kindernahrung</b>
Probenmatrix (Prozessierung)	<b>Proben A + B:</b> Getreidebreipulver, "glutenfrei"/ Zutaten: Reismehl 70%, Maismehl 20%, Hirsevollkornmehl 10%, Thiamin und weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel Magermilchpulver, Molkenpulver und Weizenmehl (eine der beiden Proben) <b>Dotierungsniveauprobe:</b> 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: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C) Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: $\beta$ -Lactoglobulin, Casein und Gluten (gluten-haltige Getreide) Proben A + B: < 1000 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 1000 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: <b>pt@dla-lvu.de</b>
Abgabetermin	<b>spätestens 26. April 2019</b>
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
		SPANIEN
		ITALIEN
		SPANIEN
		ITALIEN
		USA
		KANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ
		ITALIEN
		Belgien
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		UNGARN
		GROSSBRITANNIEN
		NIEDERLANDE
		SPANIEN
		GRIECHENLAND
		ÖSTERREICH
		ÖSTERREICH
		USA
		SPANIEN
		SLOWAKEI
		Deutschland
		KANADA

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

## Part 1: General considerations

21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen - Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes<sup>1</sup>, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
32. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, determination of soya (Glycine max) in cereal flour by real-time PCR]
33. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
34. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
35. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (Triticum L.) und Roggen (Secale cereale) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of wheat (Triticum L.) and rye (Secale cereale) in boiled sausages by real-time PCR]

36. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (*Bos domesticus*), Bessler M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, <http://www.food-allergens.de>

### **DLA 03/2019 - Allergene III**

25 von 27 Teilnehmern haben mindestens ein Ergebnis für  $\beta$ -Lactoglobulin, Casein und Gluten für ELISA- (qualitativ und quantitativ). Die Auswertung für Milch (ELISA-Methode) und Gluten (PCR-Methode) erfolgte qualitativ. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

17 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Belgien, Griechenland, Großbritannien, Italien, Niederlande, Österreich, Schweiz, Slowakei, Spanien, Ungarn), zwei Teilnehmer in Kanada und zwei in den USA.