



**Auswertungs-Bericht**  
Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 06/2019**

**Allergene VI:**

**Erdnuss und Walnuss**

**in Brotaufstrich (Kakaocreme)**

***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 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 PT-Number</i>	DLA 06/2019
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (27. Januar 2020)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 27. Januar 2020</p>
<i>Unteraufträge Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s)</p>
<i>Vertraulichkeit Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision .....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen .....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S*/opt.....	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Erdnuss.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss.....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss.....	31
4.1.3 LC-MS/MS-Ergebnisse: Erdnuss.....	34
4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss.....	37
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss.....	37
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss.....	47
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	50
5. Dokumentation.....	51
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	51
5.1.1 ELISA: Erdnuss.....	51
5.1.2 ELISA: Walnuss.....	53
5.1.3 PCR: Erdnuss.....	55
5.1.4 PCR: Walnuss.....	56
5.1.5 LC-MS/MS: Erdnuss.....	57
5.2 Homogenität.....	58
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	58
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	59
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	60
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	61

## 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 einen handelsüblichen Brotaufstrich „Nuss-Nougat-Creme“. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Die Grundmischung wurde unter Rühren bei 40°C homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Erdnuss und Walnuss enthalten, wurden zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung bei ca. 40°C homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 2 weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

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

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Nuss-Nougat-Creme Zutaten: Zucker, Palmöl, Haselnüsse (13%), Ma- germilchpulver, fettarmer Kakao, Emul- gator: Lecithine (Soja), Vanillin Nährwertangaben pro 100 g: Fett 31 g, Kohlenhydrate 58 g, Eiweiß 6,3 g	100 g/100 g	99,9 g/100 g	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100 g
<i>Erdnüsse, geröstet:</i> gemahlen, Mischung (18 Produkte aus USA, Asien, Afrika, Südamerika) - als Erdnuss* - davon 23,2% Gesamtprotein**	-	37,5 mg/kg 8,70 mg/kg	32,6 mg/kg 7,56 mg/kg
<i>Walnüsse, roh</i> gemahlen, Mischung (5 Länder / Nord- u. Südamerika, Europa) - als Walnuss* - davon 13,6% Gesamtprotein**	-	39,6 mg/kg 5,38 mg/kg	38,1 mg/kg 5,18 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	-	<0,02 g/100 g	<0,02 g/100 g

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

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit  
F=5,46 für Erdnuss und F=5,30 für Walnuss)

**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].

Da keine stückigen Proben wie die Probenmatrix B mit der Microtracer-Analyse untersucht werden können, wurde nur die pulverförmige Dotierungsneveauprobe untersucht. Die Microtracer-Analyse hat eine Wahrscheinlichkeit von 98% 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 wurde ein HorRat-Wert von 0,61 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

#### Durchführung der Homogenitätstests

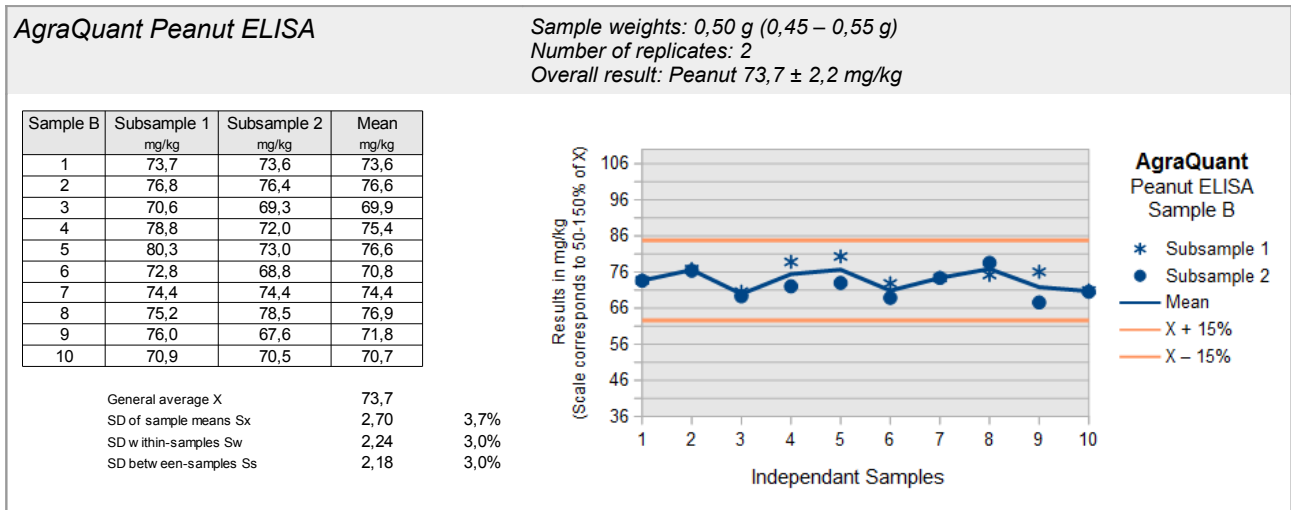
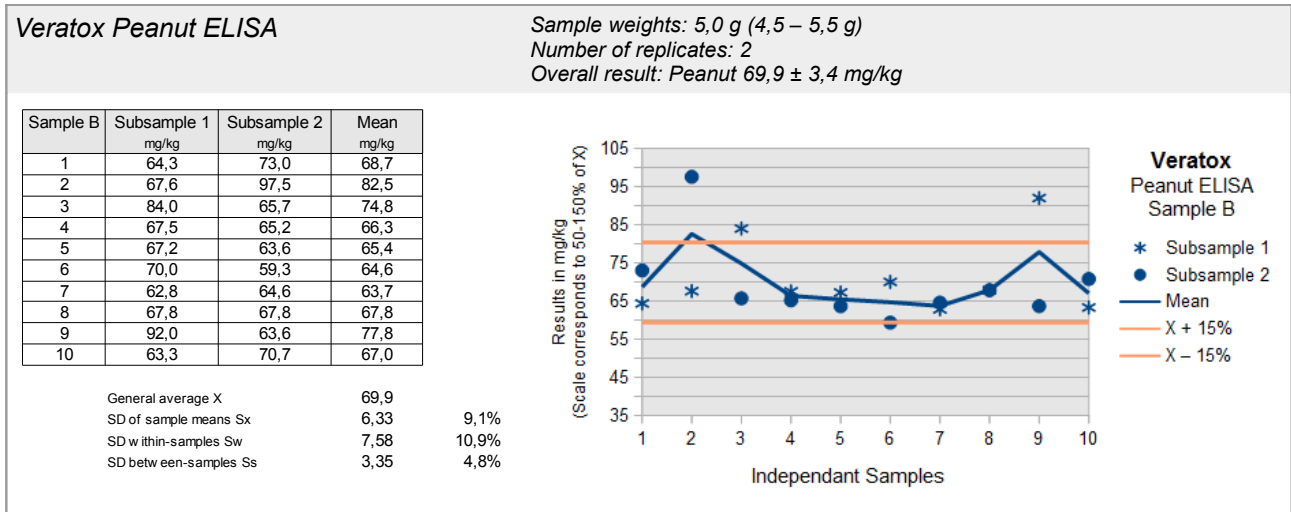
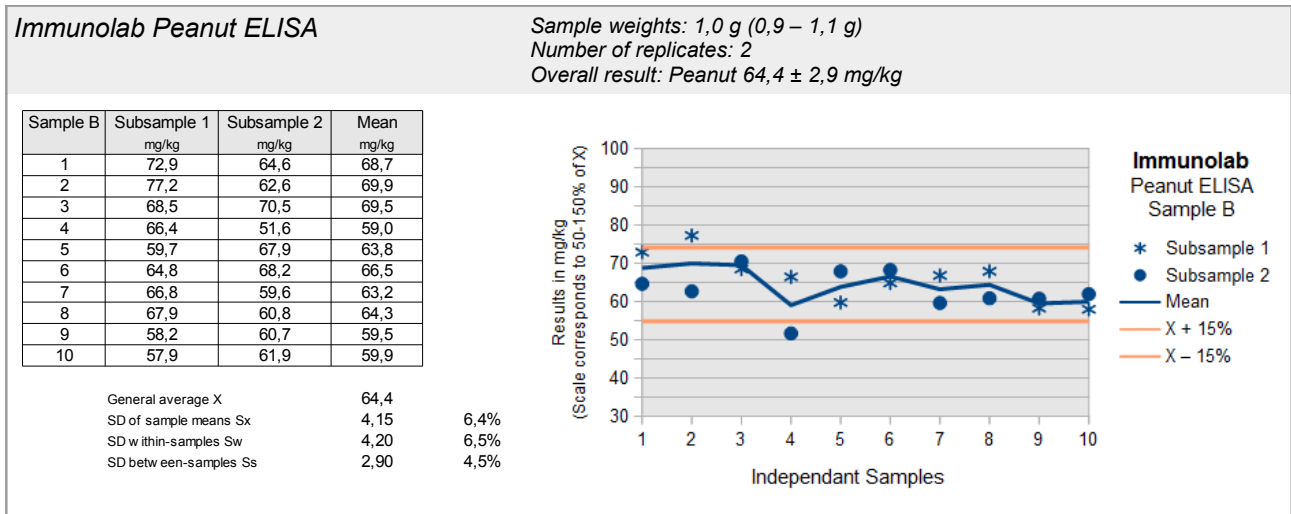
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-coodierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors 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

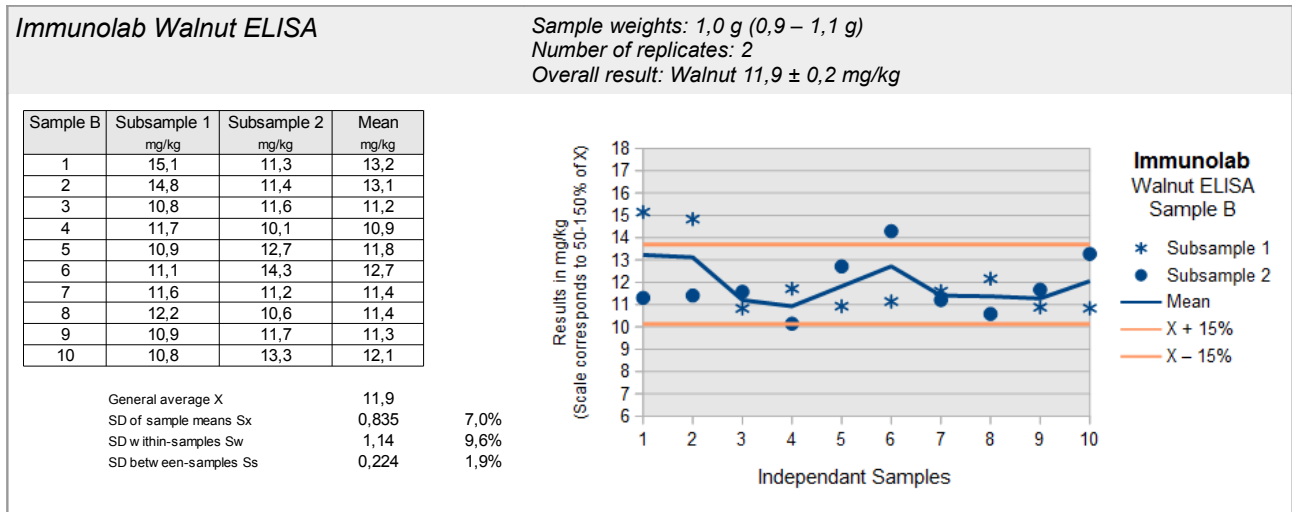
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von  $S_s \leq 15\%$  („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests sowohl für Erdnuss (Immunolab, Veratox und AgraQuant) als auch für Walnuss (Immunolab) 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 Erdnuss / Homogeneity Peanut**



**ELISA-Tests: Homogenität Walnuss / Homogeneity Walnut**





### 2.1.2 Stabilität

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Kakaocreme, die aufgrund des geringen Wassergehalts jahrelang haltbar ist. Die Lagerstabilität bzw. Haltbarkeit der Proben (mikrobieller Verderb) ist somit erfahrungsgemäß während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

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 Dotierungsniveauprobe lag bei ca.  $0,34$  ( $20,1^\circ\text{C}$ ). 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 42. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 29. November 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 **Erdnuss** und/oder **Walnuss** im mg/kg Bereich in der Matrix **Kakaocreme**. Eine der beiden Proben sowie die "Dotierungsniveauprobe" wurden mit den allergenen Zutaten hergestellt. Die "Dotierungsniveauprobe" enthält die Allergene in einfacher Matrix mit ähnlichen Gehalten ohne weitere Prozessierung. Die Dotierungsniveauprobe soll wie eine normale Probe untersucht werden.*

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

## 2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Alle 24 Teilnehmer ihre Ergebnisse fristgerecht 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:  $\Delta$  Median - rob. Mittelwert  $> 0,3 \sigma_{pt}$ ) [3].

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

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

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

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

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

### 3.2 Robuste Standardabweichung

Zum Vergleich mit der Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  (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 mg/kg = 1 ppm =  $10^{-6}$  kg/kg)

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

#### *3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision*

Aus der Vergleichsstandardabweichung  $\sigma_R$  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	Feinherb-schokolade	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	Feinherb-schokolade	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	Feinherb-schokolade	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 24 - 42% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

Tabelle 2b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relative Vergleichsstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  [32-34]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob $RSD_r$	$RSD_r$	$RSD_R$	opt	Methode / Literatur
Mandel	Reiskekse	105,2 18,0 10,5	105 % 90 % 105 %	-	19,3% 44,0% 32,0%	27,5% 49,1% 38,8%	23,9% 38,0% 31,5%	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	114,3 88,1	94,6 % 88,1 %	-	22,1% 43,9%	41,8% 43,1%	38,8% - %	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Reiskekse	109 21,3 12,3	109 % 107 % 121 %	-	17,6% 35,8% 32,0%	32,8% 45,0% 47,8%	30,3% 37,2% 42,1%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	120,7 112	98,2 % 94,1 %	-	15,7% 36,2%	32,5% 42,8%	30,5% 34,3%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Reiskekse	89,1 17,3 9,8	89,1 % 86,5 % 98 %	-	34,1% 36,2% 40,2%	34,4% 38,2% 41,8%	24,5% 28,4% 30,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	80,8 42,6	65,7 % 42,6 %	-	25,6% 27,5%	36,4% 39,7%	31,6% 34,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Reiskekse	96,6 14,2	96,6 % 71 %	-	16,8% 54,2%	31,8% 56,5%	29,5% 41,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	76,5 48,4	62,2 % 48,4 %	-	15,6% 34,4%	35,8% 37,5%	34,1% 28,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22

### 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.

Die ELISA-Ergebnisse, die als **Erdnuss-** und **Walnussprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe auf das **Gesamtlebensmittel (Erdnüsse, Walnüsse)** umgerechnet worden.

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 $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{M_i}}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode i [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD i}}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Mittelwert		
Median		
Robuster Mittelwert ( $X_{pt}$ )		
Robuste Standardabweichung ( $S^*$ )		
Zielkenndaten <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 Erdnuss

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss

#### 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		
7	negativ	<LOD	positiv	301	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
19	negativ	<LOD	positiv	64,4	2/2 (100%)	AQ	
21	negativ	<LOD	positiv	64,9	2/2 (100%)	AQ	
2	negativ	<LOQ	positiv	58,9	2/2 (100%)	BF	
18	negativ	<1	positiv	>40	2/2 (100%)	BF	
1	negativ	<1	positiv	50,0	2/2 (100%)	BK	
15a	negativ	<1	positiv	47,8	2/2 (100%)	BK	
16	negativ	< BG	positiv	41,0	2/2 (100%)	BK	
6	negativ	<1	positiv	52,6	2/2 (100%)	EF	
8	negativ	<1,0	positiv	59,1	2/2 (100%)	IL	
22	negativ	0	positiv	68,3	2/2 (100%)	IL	
13a	negativ	< 1,34	positiv	12,1	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13b	negativ	< 0,862	positiv	51,7	2/2 (100%)	MI-III	Ergebnis umgerechnet °
3	negativ	<1	positiv	96,0	2/2 (100%)	RS-F	
5	negativ	-	positiv	90,0	2/2 (100%)	RS-F	
9	negativ	<2,5	positiv	>20	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ	<2,5	positiv	81,9	2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ		positiv	94,1	2/2 (100%)	RS-F	
12	negativ		positiv	79,0	2/2 (100%)	RS-F	
14	negativ		positiv	100	2/2 (100%)	RS-F	
23	negativ		positiv	90,0	2/2 (100%)	RS-F	
15b	negativ	<2,5	positiv	76,3	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

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

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

MI-III = Morinaga Institute ELISA Test Combination

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**

Auswertenummer	Erdnuss [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	z-Score $X_{pt,RS-F}$	Methode	Hinweis
7	301			AQ	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen
19	64,4	-0,24		AQ	
21	64,9	-0,21		AQ	
2	58,9	-0,56		BF	
18	>40			BF	
1	50,0	-1,1		BK	
15a	47,8	-1,2		BK	
16	41,0	-1,6		BK	
6	52,6	-0,93		EF	
8	59,1	-0,55		IL	
22	68,3	-0,01		IL	
13a	12,1	-3,3		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13b	51,7	-0,98		MI-III	Ergebnis umgerechnet °
3	96,0	1,6	0,26	RS-F	
5	90,0	1,3	-0,01	RS-F	
9	>20			RS-F	
10	81,9	0,79	-0,37	RS-F	
11	94,1	1,5	0,18	RS-F	
12	79,0	0,62	-0,49	RS-F	
14	100	1,8	0,44	RS-F	
23	90,0	1,3	-0,01	RS-F	
15b	76,3	0,46		VT	

° Unrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

MI-III = Morinaga Institute ELISA Test Combination

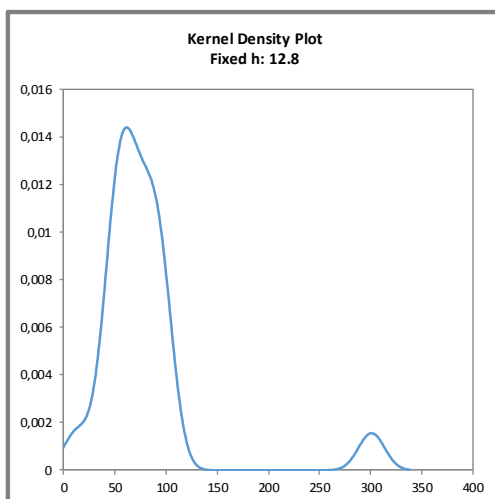
RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 1:**

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

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

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit zwei Schultern bei  $< 20$  mg/kg (Methode MI-II) und ca. 100 mg/kg und einem Nebenpeak bei ca. 300 mg/kg (Methode AQ), der auf einen Ausreißer außerhalb des Zielbereiches zurück geht.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Erdnuss**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	19 <sup>°</sup>	7
Anzahl der Ausreißer	1	0
Mittelwert	67,3	90,1
Median	64,9	90,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>68,5</b>	<b>90,1</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>22,5</b>	<b>8,53</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>17,1</b>	<b>22,5</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>34,2</b>	<b>45,1</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>103</b>	<b>135</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,3	0,38
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	6,46	4,03
Ergebnisse im Zielbereich	18	7
Prozent im Zielbereich	95	100

<sup>°</sup> ohne Ergebnis Nr. 7 (vorab ausgeschlossen)

**Methode:**

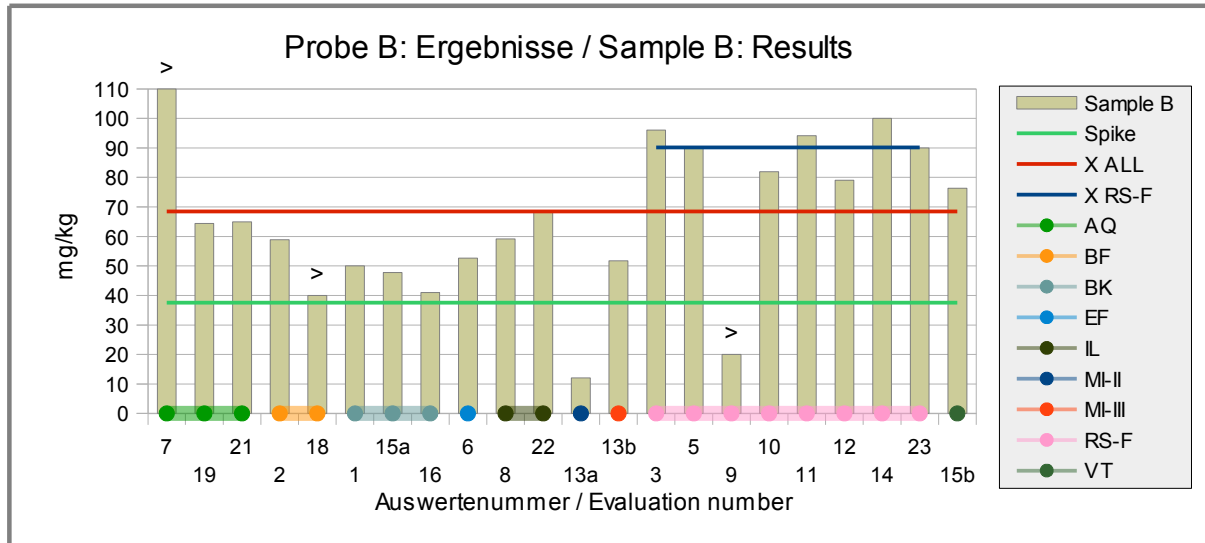
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

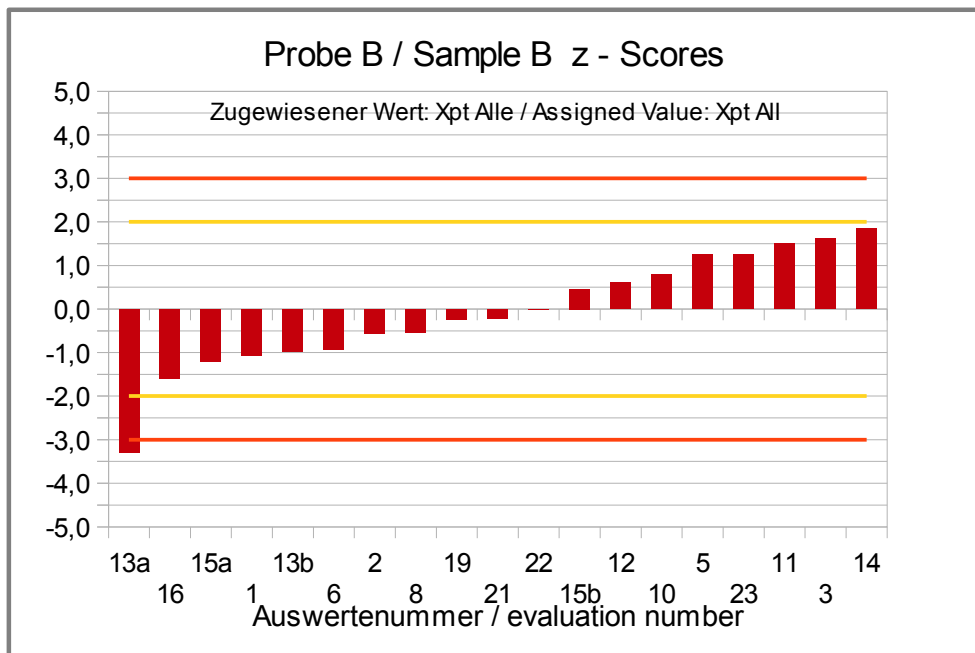
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (ein hoher Einzelwert).

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS-F 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 183% bzw. 240% vom Zusatzniveau von Erdnuss zu Probe B oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.30 "Wiederfindungsraten ELISA für Erdnuss").

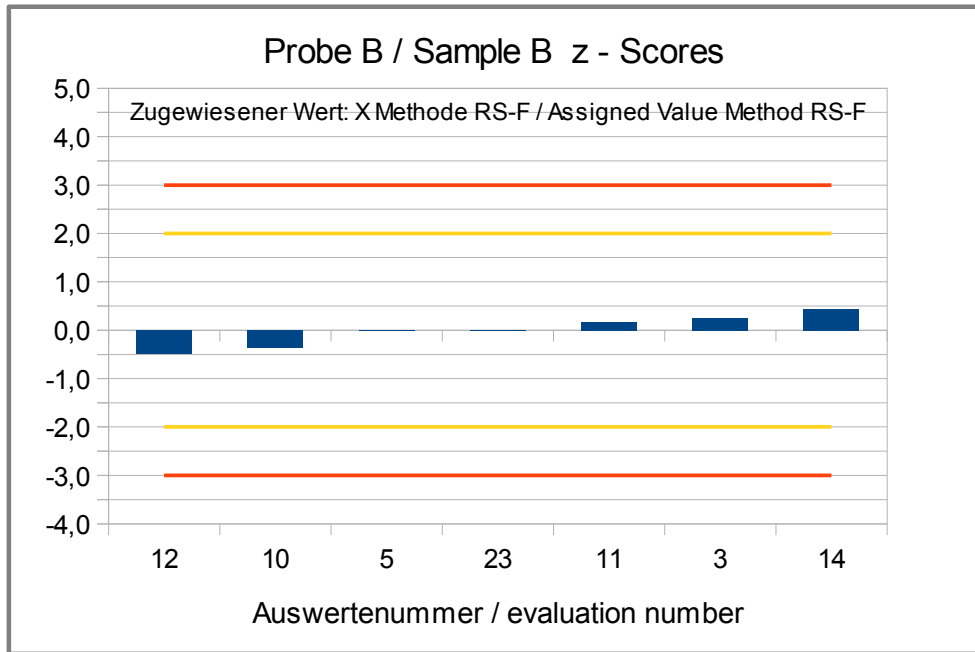


**Abb./Fig. 2:** ELISA-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



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





**Abb./Fig. 4:**

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Erdnuss [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	z-Score $X_{pt_{RS-F}}$	Methode	Hinweis
7	239			AQ	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen
19	93,7	0,31		AQ	
21	70,0	-0,78		AQ	
2	94,3	0,33		BF	
18	>40			BF	
1	100	0,59		BK	
15a	64,0	-1,1		BK	
16	75,0	-0,55		BK	
6	97,6	0,48		EF	
8	74,8	-0,56		IL	
22	85,8	-0,06		IL	
13a	13,4	-3,4		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13b	47,4	-1,8		MI-III	Ergebnis umgerechnet °
3	110	1,1	0,36	RS-F	
5	>90			RS-F	
9	>20			RS-F	
10	90,8	0,17	-0,41	RS-F	
11	94,0	0,32	-0,28	RS-F	
12	97,0	0,46	-0,17	RS-F	
14	120	1,5	0,74	RS-F	
23	95,0	0,37	-0,25	RS-F	
15b	91,4	0,20		VT	

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

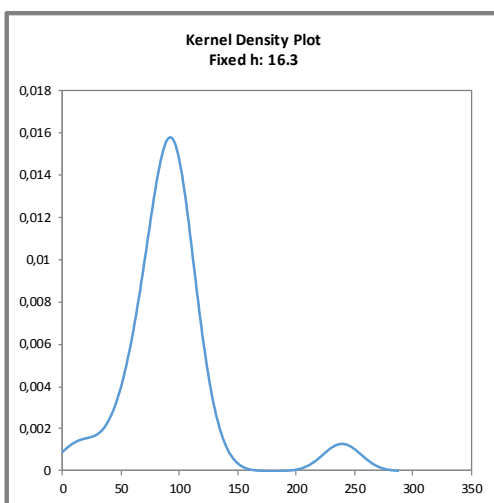
IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

MI-III = Morinaga Institute ELISA Test Combination

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

**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 annähernd eine symmetrische Verteilung mit einer Schulter bei  $< 20$  mg/kg (Methode MI-II) und einem Nebenpeak bei ca. 240 mg/kg (Methode AQ), der auf einen Ausreißer außerhalb des Zielbereiches zurück geht.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Erdnuss****Dotierungsniveauprobe**

<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	18 <sup>°</sup>	6
Anzahl der Ausreißer	1	0
Mittelwert	84,1	101
Median	92,6	96,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>87,1</b>	<b>101</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>18,7</b>	<b>13,0</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>21,8</b>	<b>25,3</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>43,5</b>	<b>50,6</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>131</b>	<b>152</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	0,86	0,51
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,52	6,62
Ergebnisse im Zielbereich	17	6
Prozent im Zielbereich	94	100

<sup>°</sup> ohne Ergebnis Nr. 7 (vorab ausgeschlossen)

**Methode:**

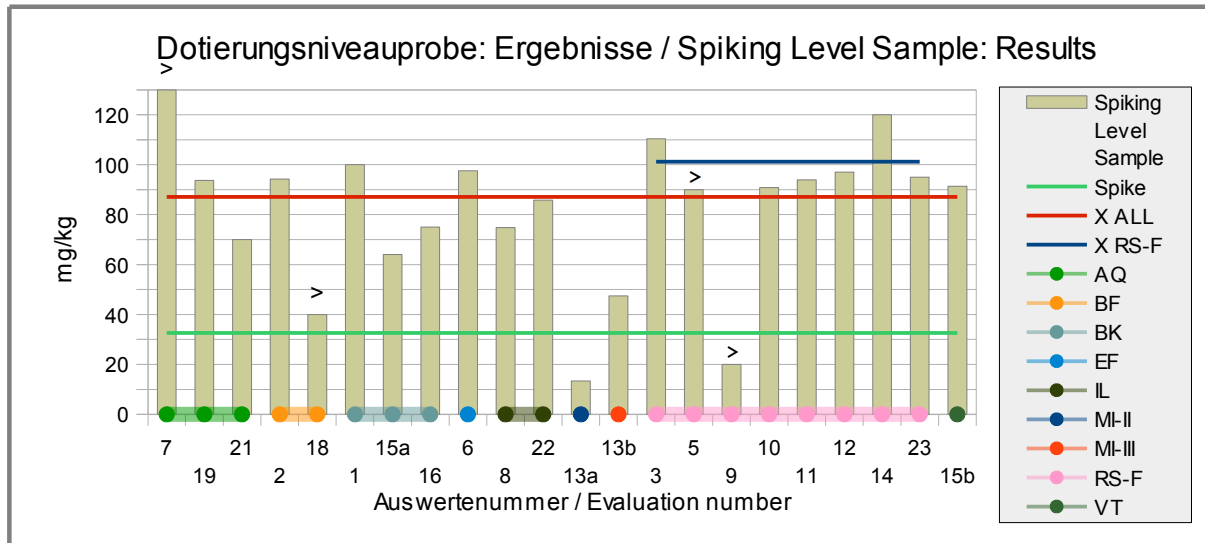
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

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

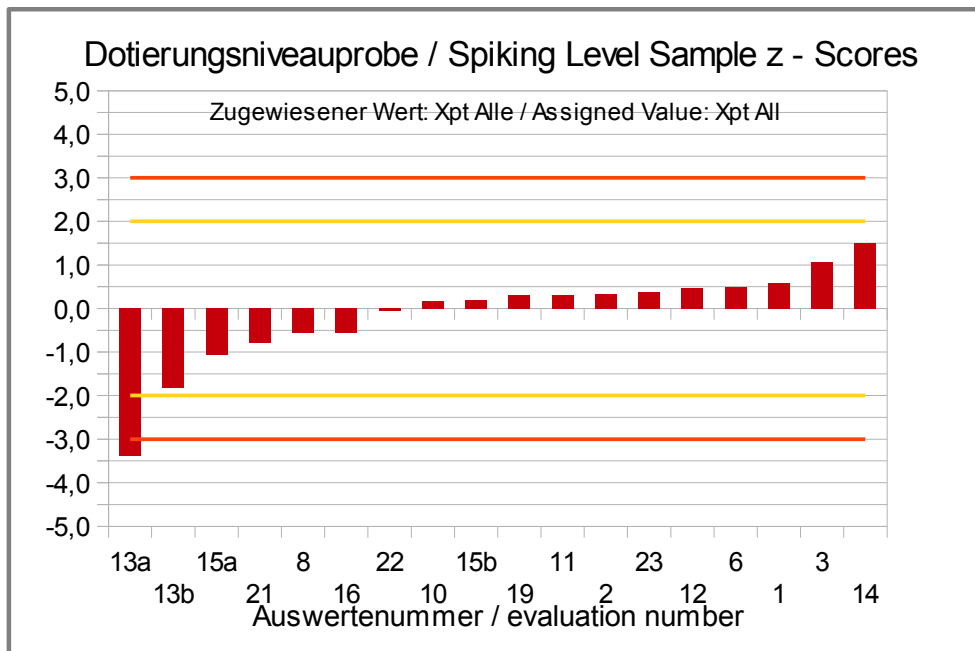
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (ein hoher Einzelwert).

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

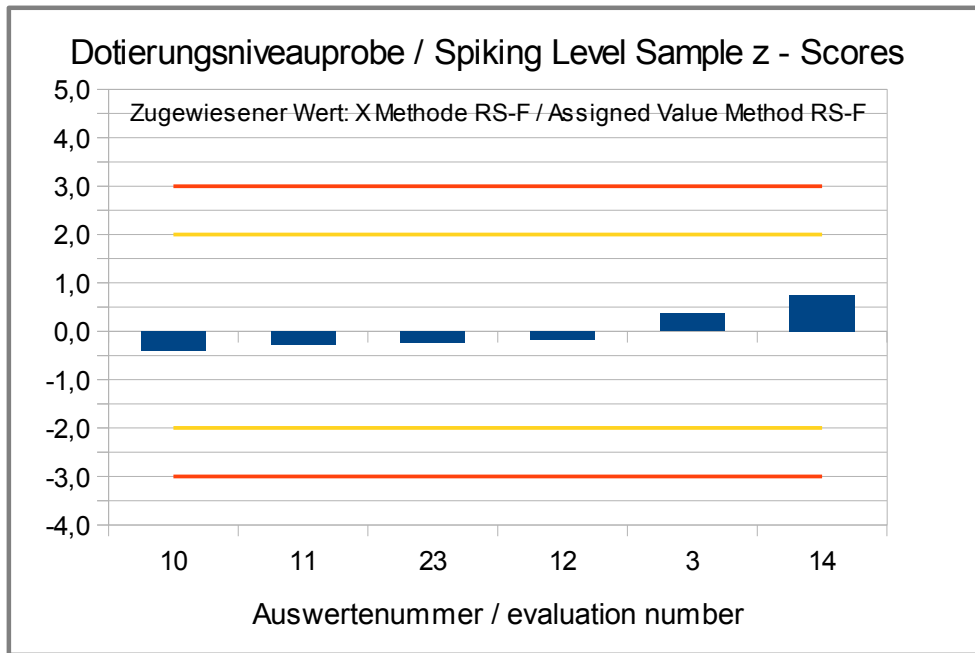
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 267% bzw. 310% vom Zusatzniveau von Erdnuss zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.30 "Wiederfindungsraten ELISA für Erdnuss").



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



**Abb./Fig. 8:**

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
7	239	734	301	802	AQ	Ergebnis umgerechnet °
19	93,7	287	64,4	172	AQ	
21	70,0	215	64,9	173	AQ	
2	94,3	289	58,9	157	BF	
18	>40		>40		BF	
1	100	307	50,0	<b>133</b>	BK	
15a	64,0	196	47,8	<b>127</b>	BK	
16	75,0	230	41,0	<b>109</b>	BK	
6	97,6	299	52,6	<b>140</b>	EF	
8	74,8	229	59,1	158	IL	
22	85,8	263	68,3	182	IL	
13a	13,4	41	12,1	32	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13b	47,4	<b>145</b>	51,7	<b>138</b>	MI-III	Ergebnis umgerechnet °
3	110	339	96,0	256	RS-F	
5	>90		90,0	240	RS-F	
9	>20		>20		RS-F	
10	90,8	279	81,9	218	RS-F	
11	94,0	288	94,1	251	RS-F	
12	97,0	298	79,0	211	RS-F	
14	120	368	100	267	RS-F	
23	95,0	291	90,0	240	RS-F	
15b	91,4	280	76,3	203	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>1</b>	Anzahl im AB	<b>5</b>
Prozent im AB	<b>5</b>	Prozent im AB	<b>25</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- BK = BioKits, Neogen
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- MI-III = Morinaga Institute ELISA Test Combination
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Ein Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 25% (5) der Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich. Mit einer Ausnahme lagen für beide Proben alle anderen Ergebnisse deutlich oberhalb dieses Bereichs.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss

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]			
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
24	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
14	negativ		positiv	50,0	2/2 (100%)	MS	
3	negativ	<1	positiv	52,3	2/2 (100%)	SFA	
18	negativ	<0,4	positiv		2/2 (100%)	SFA	
20	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
1	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
13	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
23	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

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

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method  
 MS = Microsynth  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

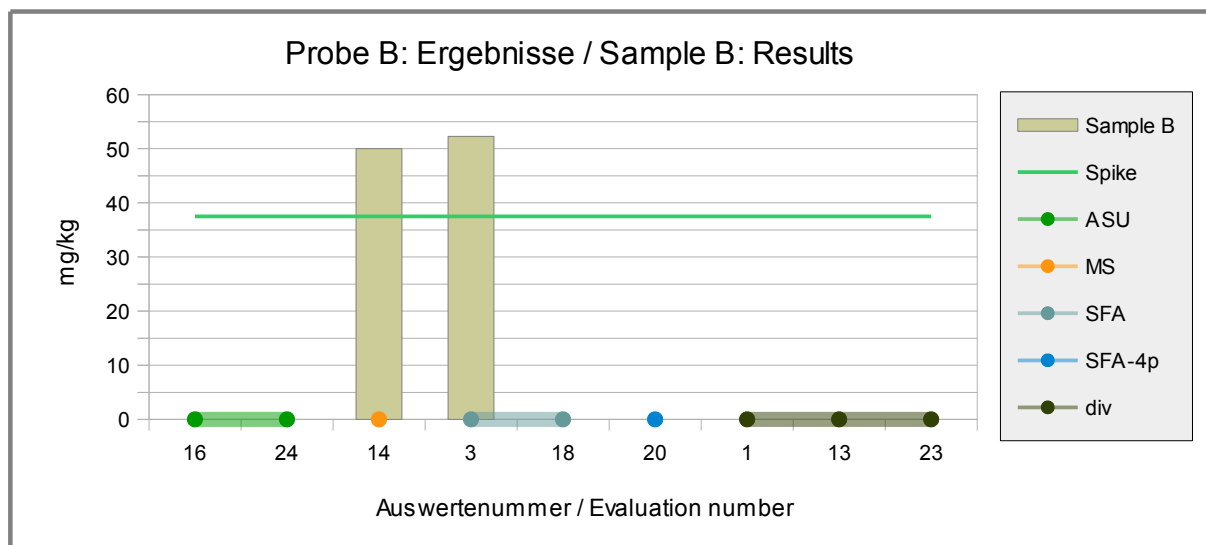


Abb./Fig. 9: PCR-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

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

Auswertenummer	Erdnuss pos/neg	Erdnuss [mg/kg]	z-Score X <sub>p</sub> <sub>ALL</sub>	Methode	Hinweis
16	positiv			ASU	
24	positiv			ASU	
14	positiv	40,0		MS	
3	positiv	47,4		SFA	
18	positiv			SFA	
20	positiv			SFA-4p	
1	positiv			div	
13	positiv			div	
23	positiv			div	

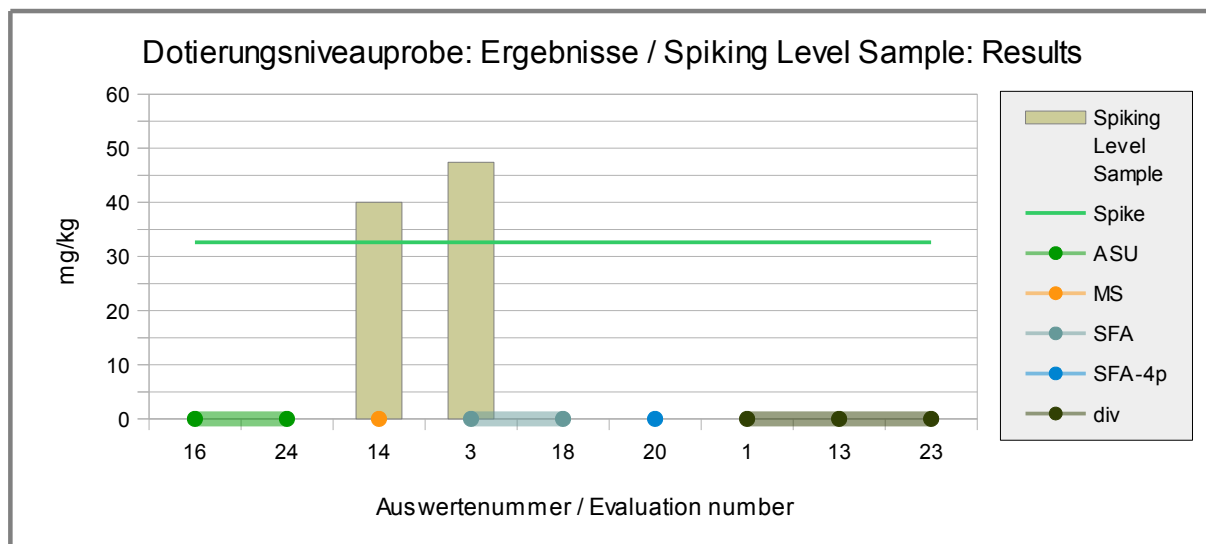
Anzahl positiv	9
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method  
 MS = Microsynth  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



**Abb./Fig. 10:** PCR-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Wiederfindungsraten PCR für Erdnuss:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
16					ASU	
24					ASU	
14	40,0	<b>123</b>	50,0	<b>133</b>	MS	
3	47,4	<b>145</b>	52,3	<b>139</b>	SFA	
18					SFA	
20					SFA-4p	
1					div	
13					div	
23					div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>2</b>	Anzahl im AB	<b>2</b>
Prozent im AB	<b>100</b>	Prozent im AB	<b>100</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Beide Teilnehmer haben sowohl mit der Dotierungsniveauprobe und als auch mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe B mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

**4.1.3 LC-MS/MS-Ergebnisse: Erdnuss**

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

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
4	negativ	< 10	positiv	36,5	2/2 (100%)	LC-MS/MS	

**Methoden:**

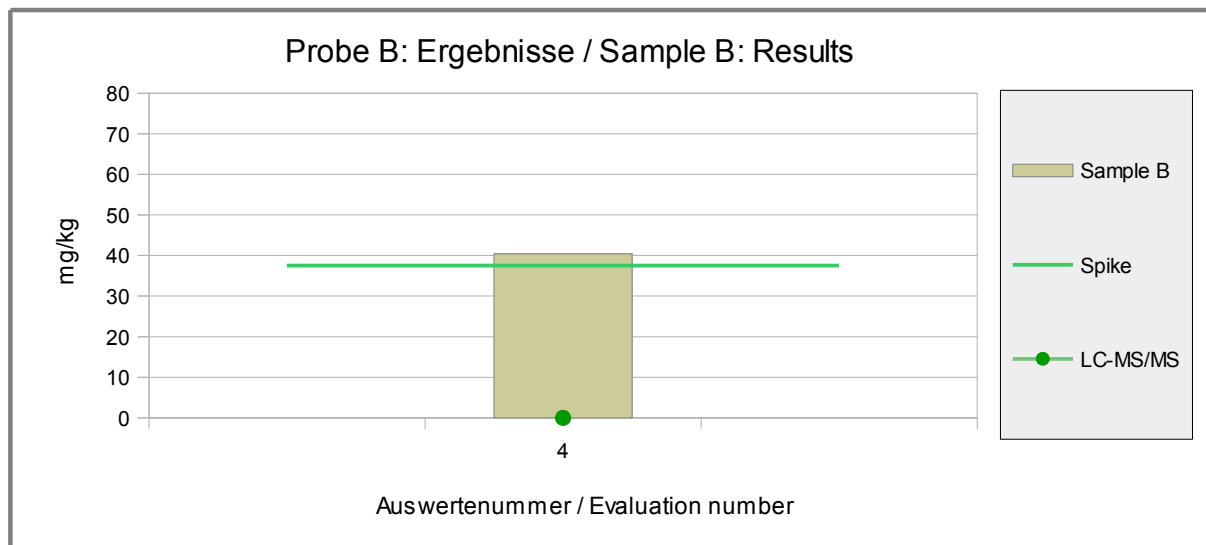
LC-MS/MS = Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie

Anmerkung:

Es wurde nur ein Ergebnissatz mittels LC-MS/MS-Methode eingereicht. Die Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

**Quantitative Auswertung LC-MS/MS: Probe B**

Eine quantitative Auswertung erfolgte nicht, weil nur ein Ergebnis vorlag.



**Abb./Fig. 11:** LC-MS/MS-Ergebnis Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung LC-MS/MS: Dotierungsniveauprobe**

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

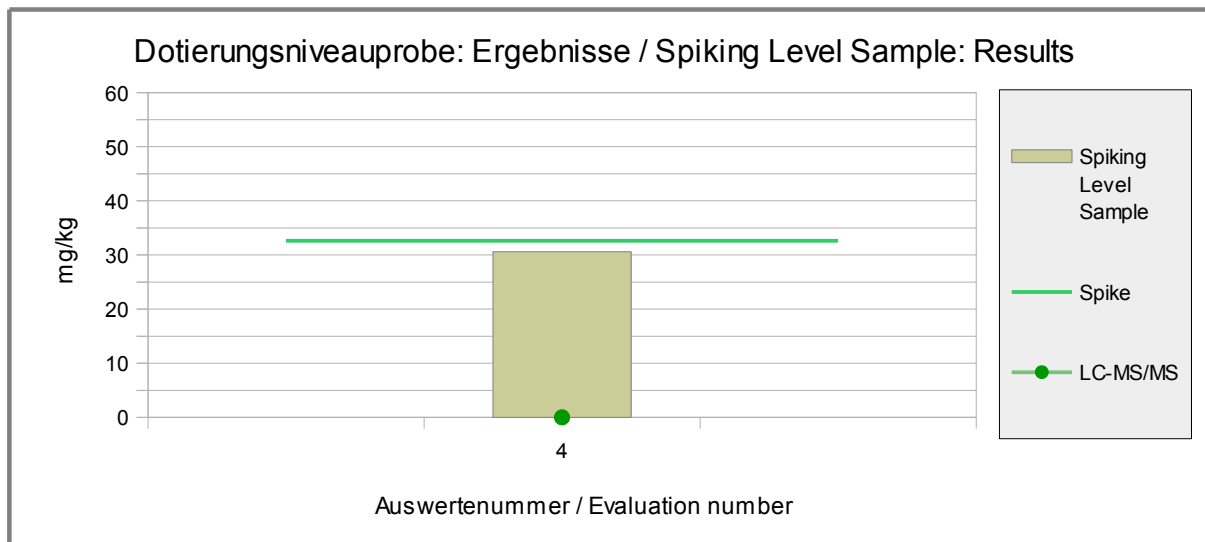
Auswertenummer	Erdnuss	Erdnuss	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
4	positiv	30,6		LC-MS/MS	

**Methoden:**

LC-MS/MS = Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden ein positives Ergebnis erhalten.



**Abb./Fig. 12:** LC-MS/MS-Ergebnis Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten LC-MS/MS für Erdnuss:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
4	30,6	94	40,4	108	LC-MS/MS	

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

**Methoden:**

LC-MS/MS = Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe und mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe B mittels LC-MS/MS eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss

#### 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		
5	negativ	-	positiv	17,0	2/2 (100%)	AQ	
7	negativ	<LOD	positiv	80,5	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
10	negativ	<1.9	positiv	7,20	2/2 (100%)	AQ	
15a	negativ	<2	positiv	2,80	2/2 (100%)	AQ	
16	negativ	< BG	positiv	10,6	2/2 (100%)	AQ	
19	negativ	<LOD	positiv	10,9	2/2 (100%)	AQ	
21	negativ	<LOD	positiv	10,2	2/2 (100%)	AQ	
3	negativ	<2	positiv	6,19	2/2 (100%)	BC	
2	negativ	<LOQ	positiv	65,8	2/2 (100%)	BF	
9	negativ	<2,0	positiv	71,0	2/2 (100%)	BF	
18	negativ	<1	positiv	>40	2/2 (100%)	BF	
1	negativ	<2.4	positiv	40,0	2/2 (100%)	BK	
15b	negativ	<2,4	positiv	13,5	2/2 (100%)	BK	
6	negativ	<2	positiv	9,90	2/2 (100%)	EF	
13	negativ	<2	positiv	15,0	2/2 (100%)	EF	
8	negativ	<2,0	positiv	9,10	2/2 (100%)	IL	
11	negativ		positiv	9,32	2/2 (100%)	IL	
22	negativ	0	positiv	13,3	2/2 (100%)	IL	
23	negativ		positiv	6,00	2/2 (100%)	IL	
17	negativ	< 14,7	positiv	307	2/2 (100%)	OS	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

	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  
 BC = BioCheck ELISA  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 BK = BioKits, Neogen  
 EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 IL = Immunolab  
 OS = Orsell

#### Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Walnuss [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z'-Score Xpt <sub>AQ</sub>	Methode	Hinweis
5	17,0	2,4	2,0	AQ	
7	80,5			AQ	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen
10	7,20	-1,3	-0,71	AQ	
15a	2,80	-2,9	-1,9	AQ	
16	10,6	-0,01	0,22	AQ	
19	10,9	0,10	0,31	AQ	
21	10,2	-0,16	0,11	AQ	
3	6,19	-1,7		BC	
2	65,8			BF	Ergebnis ausgeschlossen
9	71,0			BF	Ergebnis ausgeschlossen
18	>40			BF	
1	40,0	11		BK	
15b	13,5	1,1		BK	
6	9,90	-0,28		EF	
13	15,0	1,6		EF	
8	9,10	-0,58		IL	
11	9,32	-0,49		IL	
22	13,3	1,0		IL	
23	6,00	-1,7		IL	
17	307			OS	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen

° Umrechnung S. 19

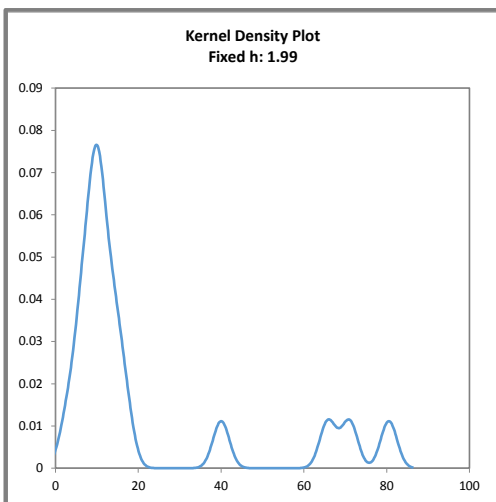
**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- BK = BioKits, Neogen
- EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- IL = Immunolab
- OS = Orsell

**Abb. / Fig. 13:**

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 5 Nebenpeaks bei >30 mg/kg, die auf Einzelergebnisse der Methoden AQ, BK und OS sowie auf zwei Ergebnisse der Methode BF zurückgehen. Die Ergebnisse der Methode BF wurden von der Auswertung ausgeschlossen, weil sie nicht mit dem rob. Mittelwert aller Methoden bewertet werden können. Der Ausreißer bei 307 mg/kg ist in Abb. 13 nicht dargestellt.

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

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode AQ</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $\bar{X}_{pt}$ )	$\bar{X}_{pt_{ALL}}$	$\bar{X}_{pt_{METHOD AQ}}$
Anzahl der Messergebnisse	15 <sup>°</sup>	6 <sup>°°</sup>
Anzahl der Ausreißer	4	1
Mittelwert	12,1	9,78
Median	10,2	10,4
<b>Robuster Mittelwert (<math>\bar{X}_{pt}</math>)</b>	<b>10,6</b>	<b>9,78</b>
<b>Robuste Standardabweichung (S*)</b>	<b>4,56</b>	<b>5,31</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math> bzw. <math>\sigma_{pt}'</math></b>	<b>2,66</b>	<b>3,65</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>5,32</b>	<b>2,48</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>15,9</b>	<b>17,1</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math> bzw. <math>S^*/\sigma_{pt}'</math></i>	1,7	1,5
<i>Standardunsicherheit <math>U(\bar{X}_{pt})</math></i>	1,47	2,71
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	12	6
<i>Prozent im Zielbereich</i>	80	100

<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 2, 7, 9 und 17 (vorab ausgeschlossen)

<sup>°°</sup> ohne Ergebnis Nr. 7 (vorab ausgeschlossen)

**Methode:**

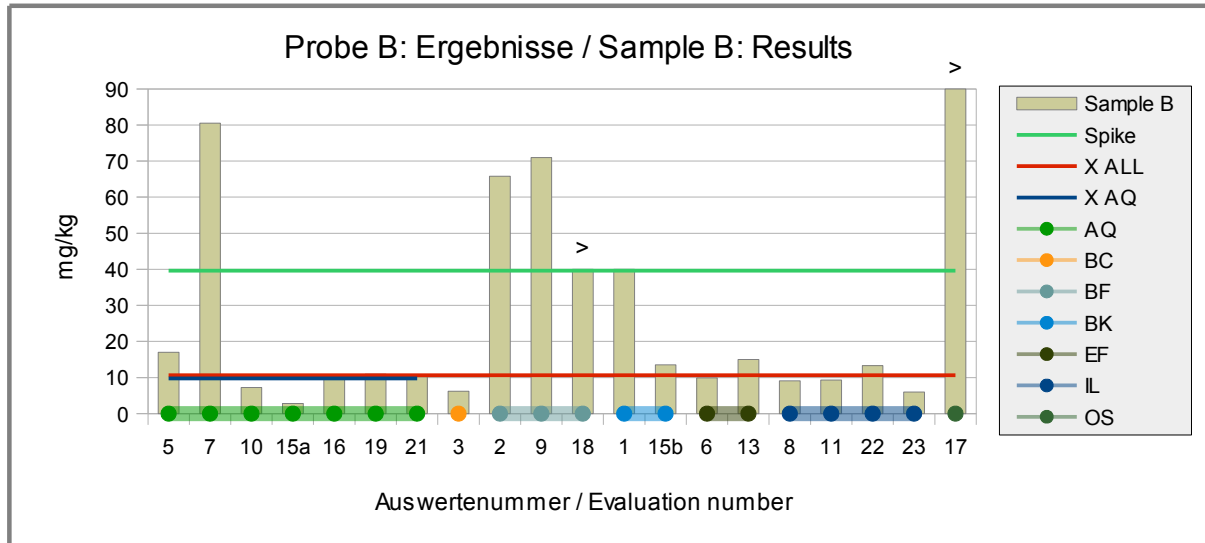
AQ = AgraQuant, RomerLabs

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

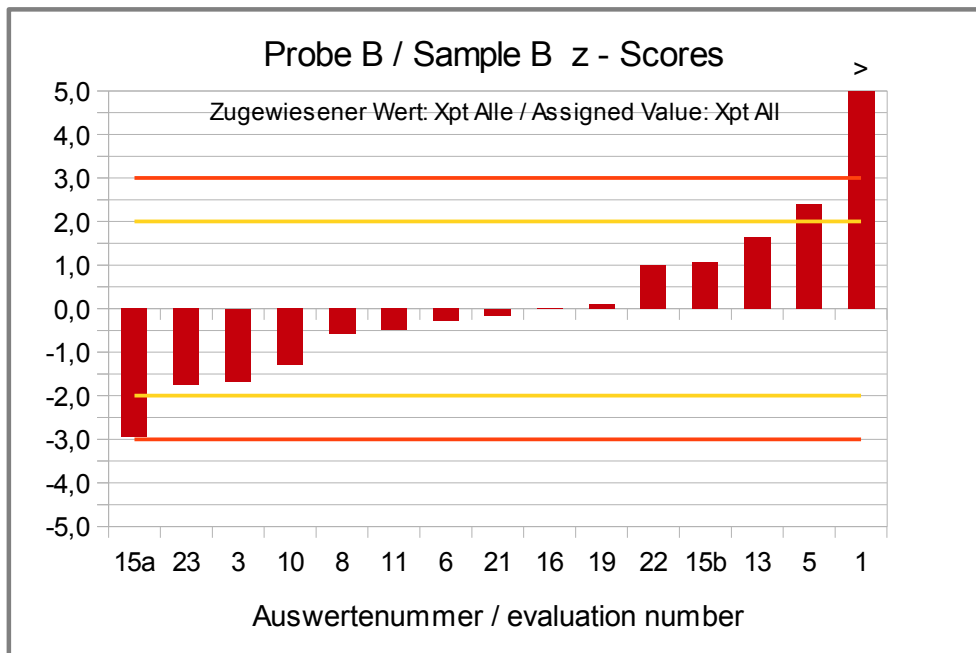
Die Kerndichte-Schätzung zeigte methodenabhängige Unterschiede bezüglich Methode BF, diese wurde daher von der Auswertung ausgeschlossen.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 2,0. Die Verteilung der Ergebnisse der Methode AQ wies eine leicht erhöhte Variabilität mit einem Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  von 2,2 auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z'-Score ausgewertet. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}'$  lag dann 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 27% bzw. 25% vom Zusatzniveau von Walnuss zu Probe B, unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.46 "Wiederfindungsraten ELISA für Walnuss").

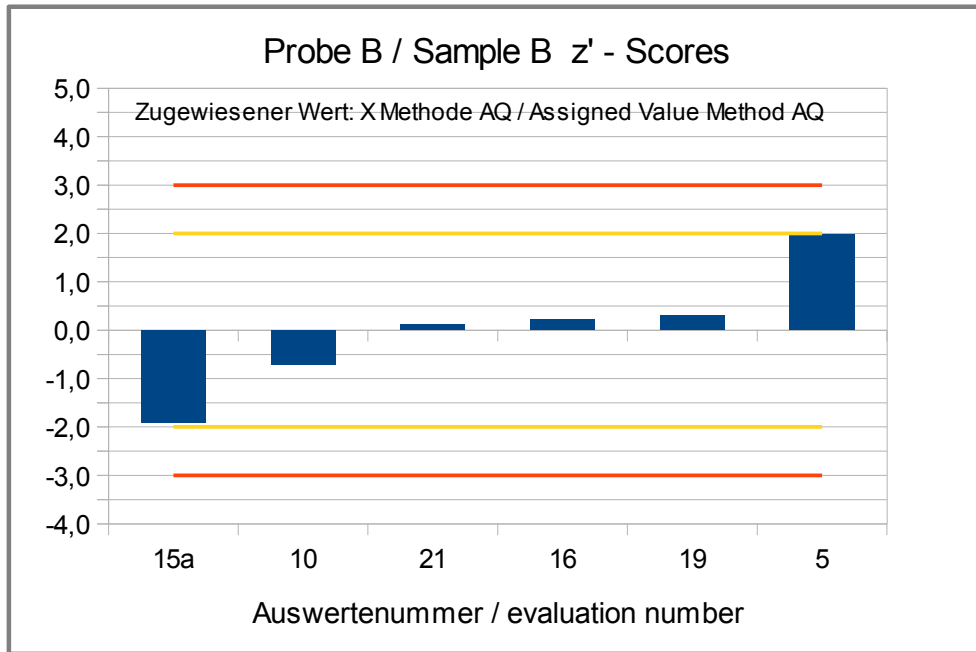


**Abb./Fig. 14:** ELISA-Ergebnisse Walnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode AQ  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 15:** z-Scores (ELISA-Ergebnisse Walnuss) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse





**Abb./Fig. 16:**

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Walnuss [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	z-Score $X_{pt,AQ}$	Methode	Hinweis
5	122	-0,37	-0,35	AQ	
7	684			AQ	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen
10	155	0,60	0,62	AQ	
15a	94,2	-1,2	-1,2	AQ	
16	132	-0,07	-0,06	AQ	
19	174	1,2	1,2	AQ	
21	126	-0,24	-0,23	AQ	
3	191	1,7		BC	
2	73,5	-1,8		BF	
9	74,0	-1,8		BF	
18	>40			BF	
1	260	3,7		BK	
15b	108	-0,80		BK	
6	114	-0,61		EF	
13	120	-0,43		EF	
8	150	0,46		IL	
11	167	0,98		IL	
22	140	0,15		IL	
23	149	0,43		IL	
17	1108			OS	Ergebnis umgerechnet °, Ergebnis ausgeschlossen

° Umrechnung S. 19

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

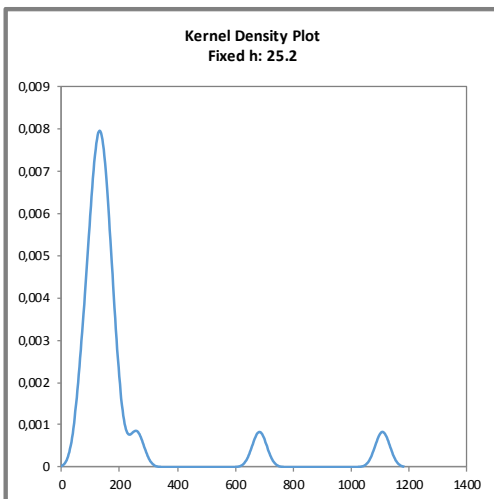
BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

IL = Immunolab

OS = Orsell

**Abb. / Fig. 17:**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 drei Nebenpeaks bei  $> 200$  mg/kg, die auf Einzelwerte der Methoden AQ, BK und OS zurückgehen und außerhalb des Zielbereiches liegen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Walnuss****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	17 <sup>°</sup>	6 <sup>°°</sup>
Anzahl der Ausreißer	2	1
Mittelwert	138	134
Median	132	129
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>134</b>	<b>134</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>41,2</b>	<b>31,3</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>33,6</b>	<b>33,5</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>67,2</b>	<b>66,9</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>202</b>	<b>201</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>1,2</i>	<i>0,94</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	<i>12,5</i>	<i>16,0</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>16</i>	<i>6</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>94</i>	<i>100</i>

<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 7 u. 17 (vorab ausgeschlossen)

<sup>°°</sup> ohne Ergebnis Nr. 7 (vorab ausgeschlossen)

**Methode:**

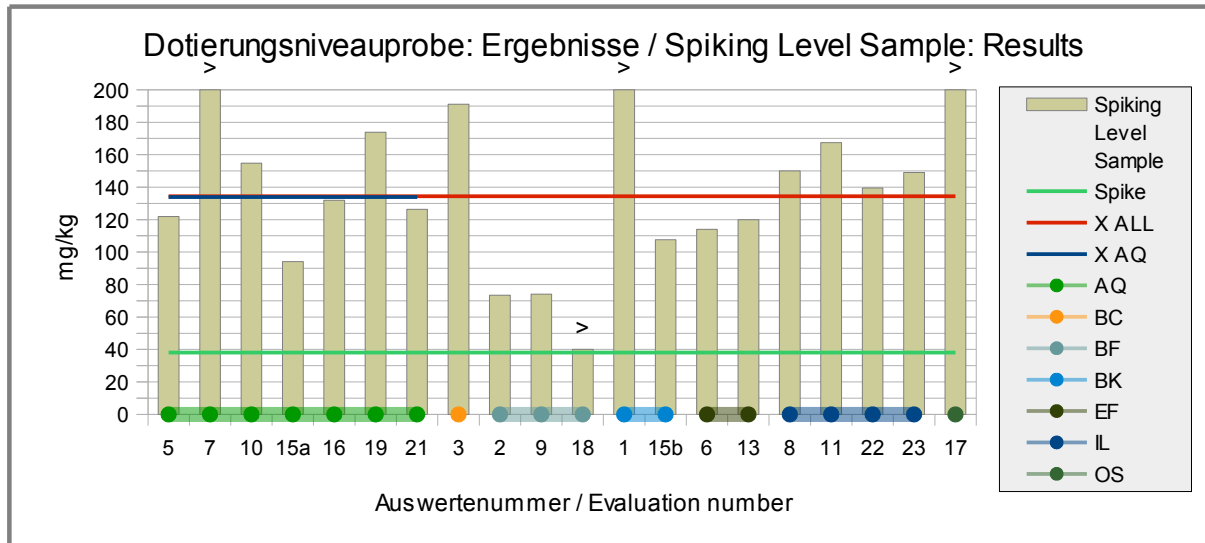
AQ = AgraQuant, RomerLabs

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

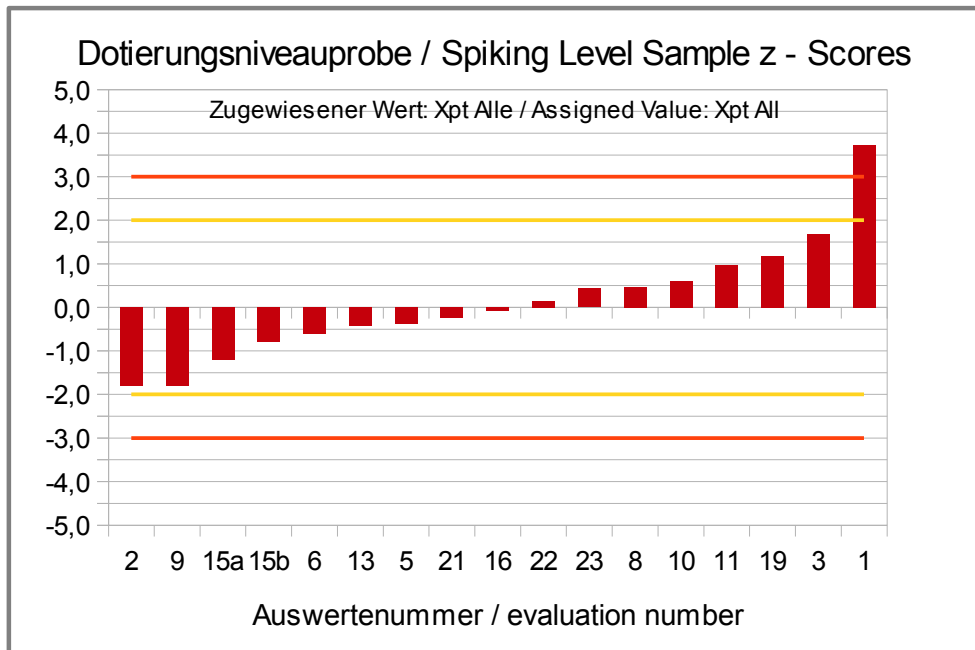
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (drei hohe Einzelwerte).

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.

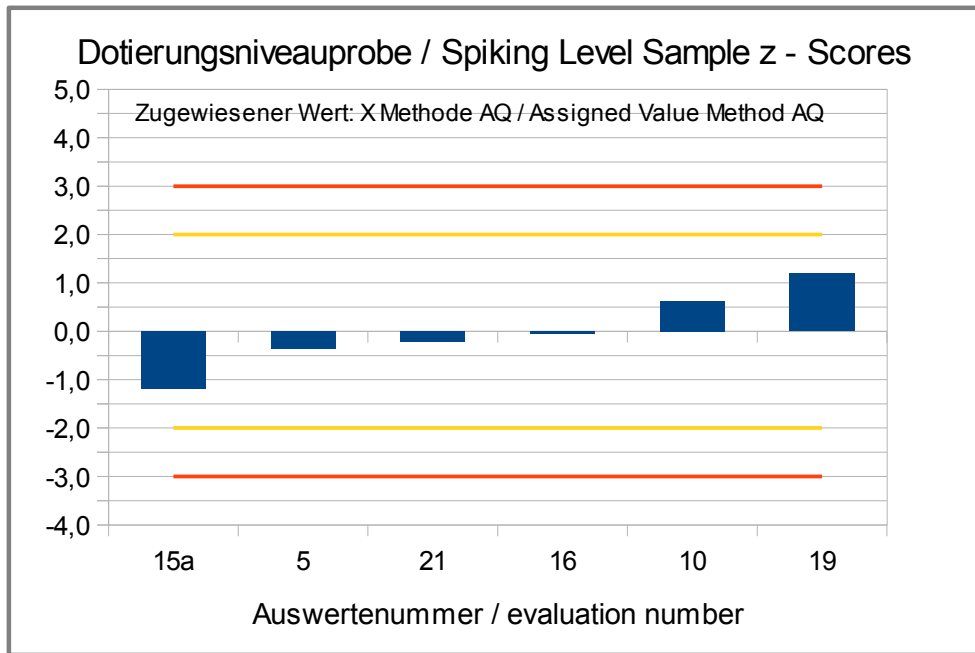
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit je 352% vom Zusatzniveau von Walnuss zur Dotierungsniveauprobe deutlich oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.46 "Wiederfindungsraten ELISA für Walnuss").



**Abb./Fig. 18:** ELISA-Ergebnisse Walnuss  
 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. 19:** z-Scores (ELISA-Ergebnisse Walnuss) Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 20:**

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
5	122	320	17,0	43	AQ	
7	684	1795	80,5	203	AQ	Ergebnis umgerechnet °
10	155	406	7,20	18	AQ	
15a	94,2	247	2,80	7	AQ	
16	132	346	10,6	27	AQ	
19	174	456	10,9	28	AQ	
21	126	331	10,2	26	AQ	
3	191	501	6,19	16	BC	
2	73,5	193	65,8	166	BF	
9	74,0	194	71,0	179	BF	
18	>40		>40		BF	
1	260	682	40,0	101	BK	
15b	108	282	13,5	34	BK	
6	114	299	9,90	25	EF	
13	120	315	15,0	38	EF	
8	150	394	9,10	23	IL	
11	167	439	9,32	24	IL	
22	140	366	13,3	34	IL	
23	149	391	6,00	15	IL	
17	1108	2908	307	776	OS	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	0	Anzahl im AB	1
Prozent im AB	0	Prozent im AB	5

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BC = BioCheck ELISA  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 BK = BioKits, Neogen  
 EF = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 IL = Immunolab  
 OS = Orsell

Anmerkung:

Keiner der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lag eine der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss

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]			
14	negativ		positiv	50,0	2/2 (100%)	MS	
3	negativ	<1	positiv	82,8	2/2 (100%)	SFA	
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
18	negativ	<0,4	positiv		2/2 (100%)	SFA	
20	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
1	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
13	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
23	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	8
Anzahl negativ	8	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

MS = Microsynth  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

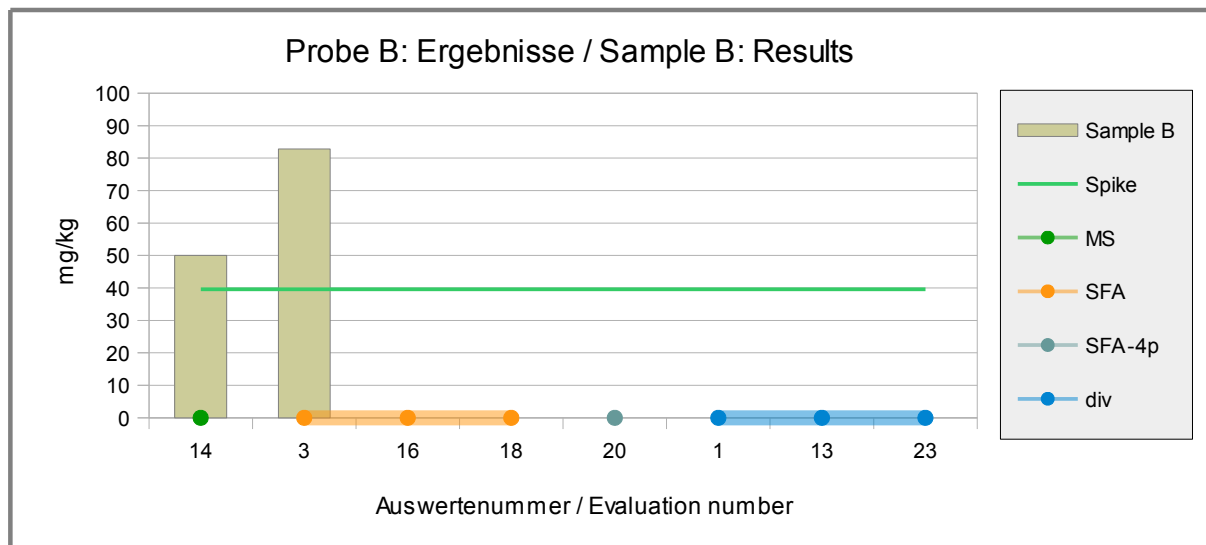


Abb./Fig. 21: PCR-Ergebnisse Walnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

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

Auswertenummer	Walnuss pos/neg	Walnuss [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	Methode	Hinweis
14	positiv	50,0		MS	
3	positiv	82,9		SFA	
16	positiv			SFA	
18	positiv			SFA	
20	positiv			SFA-4p	
1	positiv			div	
13	positiv			div	
23	positiv			div	

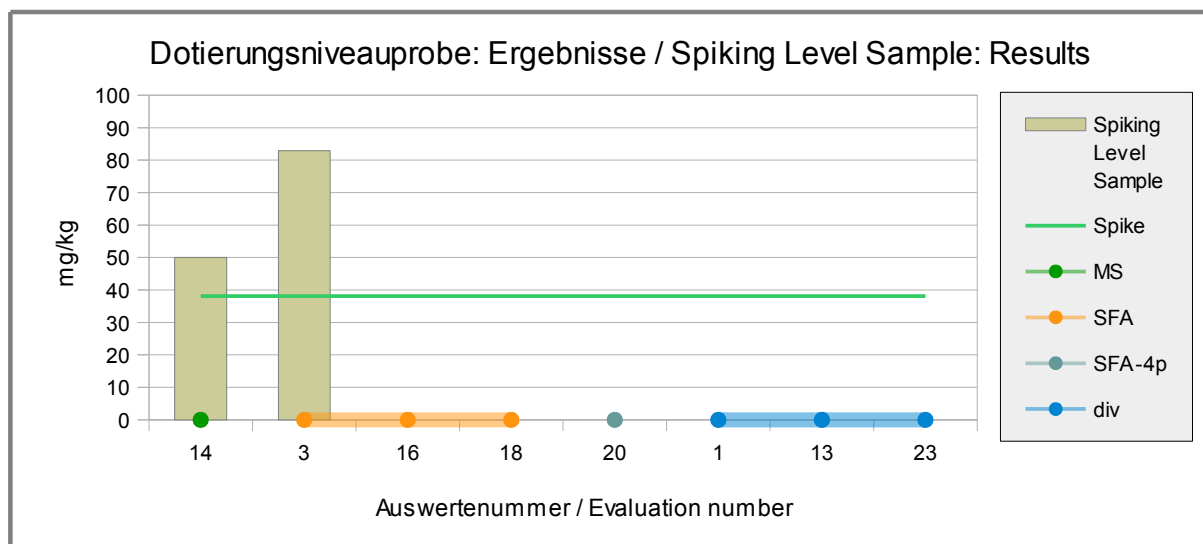
Anzahl positiv	8
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

**Methoden:**

MS = Microsynth  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



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



**Wiederfindungsraten PCR für Walnuss:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*	Probe B	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]		
14	50,0	131	50,0	126	MS	
3	82,9	218	82,8	209	SFA	
16					SFA	
18					SFA	
20					SFA-4p	
1					div	
13					div	
23					div	

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

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Einer der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe und der prozessierten dotierten Lebensmittelmatrix-Probe B mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

### 4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

Auswertenummer	ELISA Erdnuss : Xpt <sub>ALL</sub>		ELISA Erdnuss : Xpt <sub>RS-F</sub>		ELISA Walnuss : Xpt <sub>ALL</sub>		ELISA Walnuss : Xpt <sub>AQ</sub>		
	Methoden	Probe B	Dot.-Probe	Probe B	Dot.-Probe	Probe B	Dot.-Probe	Probe B *	Dot.-Probe
1		-1,1	0,59	-	-	11	3,7	-	-
2		-0,56	0,33	-	-	-	-1,8	-	-
3		1,6	1,1	0,26	0,36	-1,7	1,7	-	-
4		-	-	-	-	-	-	-	-
5		1,3	-	-0,01	-	2,4	-0,37	2,0	-0,35
6		-0,93	0,48	-	-	-0,28	-0,61	-	-
7		-	-	-	-	-	-	-	-
8		-0,55	-0,56	-	-	-0,58	0,46	-	-
9		-	-	-	-	-	-1,8	-	-
10		0,79	0,17	-0,37	-0,41	-1,3	0,60	-0,71	0,62
11		1,5	0,32	0,18	-0,28	-0,49	0,98	-	-
12		0,62	0,46	-0,49	-0,17	-	-	-	-
13a/ 13		-3,3	-3,4	-	-	1,6	-0,43	-	-
13b		-0,98	-1,8	-	-	-	-	-	-
14		1,8	1,5	0,44	0,74	-	-	-	-
15a		-1,2	-1,1	-	-	-2,9	-1,2	-1,9	-1,2
15b		0,46	0,20	-	-	1,1	-0,80	-	-
16		-1,6	-0,55	-	-	-0,01	-0,07	0,22	-0,06
17		-	-	-	-	-	-	-	-
18		-	-	-	-	-	-	-	-
19		-0,24	0,31	-	-	0,10	1,2	0,31	1,2
20		-	-	-	-	-	-	-	-
21		-0,21	-0,78	-	-	-0,16	-0,24	0,11	-0,23
22		-0,01	-0,06	-	-	1,0	0,15	-	-
23		1,3	0,37	-0,01	-0,25	-1,7	0,43	-	-
24		-	-	-	-	-	-	-	-

\* z'-Score

## 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: Erdnuss

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	mg/kg	mg/kg			
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	7	06.11.2019	-	<LOD	-	69,75	-	55,5	0,1	1		Erdnuss protein	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
AQ	19	23.10.19	negativ	<LOD	positiv	64,4	positiv	93,7	0,1	1	50	Erdnuss	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
AQ	21	31.10.19	negativ	<LOD	positiv	64,9	positiv	70	0,5	1	50	Erdnuss	AgraQuant Plus ELISA Peanut COKAL0148F, RomerLabs
BF	2	27/11	negativ	bLOQ	positiv	58,9	positiv	94,3	0,24	1		Erdnuss	MonoTrace Peanut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	18		negativ	<1	positiv	>40	positiv	>40		1		Erdnuss	MonoTrace Peanut ELISA kit, BioFront Technologies
BK	1	23./31.10., 29.11.19	negativ	<1	positiv	50	positiv	100	1	1		Erdnuss	BioKits Peanut Assay Kit, Neogen
BK	15a	15.11.2019	negativ	<1	positiv	47,8	positiv	64		1		Erdnuss	BioKits Peanut Assay Kit, Neogen
BK	16	04.11.19	-	< BG	-	41	-	75		1		Lebensmittel	BioKits Peanut Assay Kit, Neogen
EF	6		-	<1	-	52,6	-	97,6		<1		Erdnuss	Eurofins SensiSpec Peanut ELISA Kit
IL	8	22. Nov	-	<1,0	-	59,1	-	74,8		1		Erdnuss	Immunolab Peanut ELISA
IL	22	29.10.19	negativ	0	positiv	68,3	positiv	85,8				Erdnuss	Immunolab Peanut ELISA
MI-II	13a	23.10.19	negativ	<0,31	positiv	2,8	positiv	3,1	0,12	0,31		Erdnussprotein	Peanut ELISA Kit-II, Morinaga
MI-III	13b	30.10.19	negativ	<0,2	positiv	12	positiv	11	0,2	0,2		Erdnussprotein	MioBS Test Combination M2120:2019-02
RS-F	3	30.10.2019	negativ	<1	positiv	96,01	positiv	110,44	1	1	31,4	Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	5	26.11.19	NN	-	-	90	-	>90	0,3	1		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	9	13. Nov	-	<2,5	-	>20	-	>20		2,5		Bitte auswählen!	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	10	25.10.19	-	<2,5	-	81,9	-	90,8	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	11	26.11.2019	negativ		positiv	94,1	positiv	94	0,8	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	12	20. Nov	negativ		positiv	79	positiv	97	2,5	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	14	18.11.19	negativ		positiv	100	positiv	120	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	23		neg		pos	90	pos	95	2,5	2,5		Bitte auswählen!	r-biopharm R6202
VT	15b	13.11.2019	negativ	<2,5	positiv	76,3	positiv	91,4		2,5		Erdnuss	Veratox Peanut, Neogen

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Erdnuss:

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	7		Extrahiert mit dem Extraktionspuffer des Kits. Extrahiert für 15 Minuten bei 60 Grad Celsius.	ja	
AQ	19	ganze Erdnuss		ja	AgraQuant Kits haben neue Artikelnummern. Peanut: 10001990
AQ	21	Erdnuss	Wasser, Extraktionsadditiva, 15 Sekunden schütteln	nein	
BF	2	Monoklonaler Antikörper-basierter Assay	1:10 Extraktionsverhältnis bei 62°C für 10 Minuten	N/A	Product # PA3-EK
BF	18			ja	
BK	1	Conarachin (Ara h1)	gemäss Kitanleitung	ja	
BK	15a		wie in der Kit-Anleitung angegeben	ja	geringe Wiederfindung bei Probe A (32%)
BK	16	Polyklonaler AK gegen Conarachin (Ara h1)	nach Anleitung	ja	
EF	6			ja	
IL	8			ja	
IL	22				
MI-II	13a	erkennt Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	M2116
MI-III	13b	erkennt Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	3	gemäß Kit-Anleitung	gemäß Kit-Anleitung	ja	mit 1ppm LOD Adaptation
RS-F	5	s. Anleitung	s. Anleitung	ja	
RS-F	9			ja	
RS-F	10	nicht bekannt	gemäss Anleitung Kit	ja	Kreuzreaktivität zu grünen Erbsen, Linsen, Weizengriess und Bockshornklee
RS-F	11			ja	Verdünnung 1:10 für Probe B,Sp
RS-F	12			nein	
RS-F	14			ja	
RS-F	23		1 g Einw aage, nach Kitanleitung	ja	
VT	15b		wie in der Kit-Anleitung angegeben	ja	gute Wiederfindung bei Probe A (105%)

## 5.1.2 ELISA: Walnuss

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	mg/kg	mg/kg			
AQ	5	20.11.19	NN	-	-	17	-	122	0,35	2		Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	7	06.11.2019	-	<LOD	-	10,95	-	93	0,35	2		Walnussprotein	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	10	25.11.19	-	<1.9	-	7,2	-	154,7	0,35	2		Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	15	24.10.2019	negativ	<2	positiv	2,8	positiv	94,2		2		Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	16	07.11.19	-	< BG	-	10,6	-	132		2		Lebensmittel	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	19	23.10.19	negativ	<LOD	positiv	10,9	positiv	173,9	0,35	2	40	Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	21	31.10.19	negativ	<LOD	positiv	10,2	negativ	126,3	0,35	2	50	Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
BC	3	25.11.2019	negativ	<2	positiv	6,19	positiv	191,01	2	2	30,15	Walnuss	BioCheck ELISA Walnut-Check
BF	2	27/11	negativ	bLOQ	positiv	65,8	positiv	73,5	0,22	1		Walnuss	MonoTrace Walnut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	9	07. Nov	-	<2,0	-	71	-	74		2		Bitte auswählen!	MonoTrace Peanut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	18		negativ	<1	positiv	>40	positiv	>40		1		Walnuss	MonoTrace Walnut ELISA kit, BioFront Technologies
BK	1	23./31.10., 29.11.19	negativ	<2.4	positiv	40	positiv	260	2,4	2,4		Walnuss	BioKits Walnut Assay Kit, Neogen
BK	15	15.11.2019	negativ	<2,4	positiv	13,5	positiv	107,6		2,4		Walnuss	BioKits Walnut Assay Kit, Neogen
EF	6		-	<2	-	9,9	-	114,1		<2		Walnuss	Eurofins SensiSpec Walnut ELISA Kit
EF	13	28.10.19	negativ	<2	positiv	15	positiv	120	2	2		Walnuss	Eurofins SensiSpec Walnut ELISA Kit
IL	8	22. Nov	-	<2,0	-	9,1	-	150		2		Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
IL	11	04.11.2019	negativ		positiv	9,32	-	167,4	0,35	2		Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
IL	22	29.10.19	negativ	0	positiv	13,3	positiv	139,5				Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
IL	23		neg		pos	6	pos	149	n.a.			Bitte auswählen!	Immunolab Wal-137
OS	17	28.10.2019	negativ	<2	positiv	41,8	positiv	150,7		2		Walnussprotein	other: EZ-PLATE WALNUT 2-60 ppm - ORSELL

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung *ELISA* Walnuss:

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	5	s. Anleitung	s. Anleitung	ja	
AQ	7		Extrahiert mit dem Extraktionspuffer des Kits. Extrahiert für 15 Minuten bei 60 Grad Celsius.	ja	
AQ	10	nicht bekannt	gemäss Anleitung Kit	ja	Kreuzreaktivität zu Cashew kerne, Huhn, Pekannüsse
AQ	15a		wie in der Kit-Anleitung angegeben	ja	Das Spiken der Kakaocremematrix gibt ein Signal unter der BG für die nicht erkannte Probe.
AQ	16	anti-Walnussprotein	nach Anleitung	ja	
AQ	19	ganze Walnuss		ja	AgraQuant Kits haben neue Artikelnummern. Walnut: 10002030
AQ	21	Walnuss	wässriger Puffer, Schüttler für 15 Minuten	nein	
BC	3	gemäß Kit-Anleitung	gemäß Kit-Anleitung	ja	
BF	2	Monoklonaler Antikörper-basierter Assay	1:10 Extraktionsverhältnis bei 62°C für 10 Minuten	N/A	Product # WJ4-EK
BF	9			ja	
BF	18			ja	
BK	1		gemäss Kitanleitung	ja	
BK	15b		wie in der Kit-Anleitung angegeben	ja	geringe Wiederfindung bei Probe A (6%)
EF	6			ja	
EF	13	erkennt Walnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	HU0030024:2
IL	8			ja	
IL	11				Verdünnung 1:10 für Dotierungsniveauprobe
IL	22				
IL	23		1 g Einw aage, nach Kitanleitung		Methode nicht etabliert
OS	17		1g in 20 mL Pufferlösung; Inkubationszeit 15 Minuten bei 60°C	ja	

## 5.1.3 PCR: Erdnuss

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	mg/kg	mg/kg	mg/kg		
ASU	16	29.10.19	negativ		positiv		positiv					Erdnuss-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	24	18. Dez	negativ		positiv		positiv		10			Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method
MS	14	7.11.19	negativ		positiv	50	positiv	40	10	50	50	Erdnuss	Microsynth
SFA	3	31.10.2019	negativ	<1	positiv	52,29	positiv	47,42	1	1	73,57	Erdnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	18		negativ	<0,4	positiv		positiv		0,4			Erdnuss DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	20	30.10.19	negativ		positiv		positiv		1		30	Erdnuss	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
div	1	07.11.19	negativ		positiv		positiv					Erdnuss-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	13	23.10.19	negativ		positiv		positiv		5			Erdnuss-DNA	interne Methode
div	23		neg		pos		pos					Bitte auswählen!	Köppel et al., Eur Food Res Technol, 2012

\* 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	
ASU	16	86bp langer Sequenzabschnitt des Gens für Ara h2	Dotierungsprobe: SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen Probe A+B: Dneasy Mericon Food-Kit, QIAquick PCR Purification-Kit Qiagen/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen	ja	
ASU	24	Ara H2	gemäß ISO 15634-4:2016	nein	
MS	14	Ara h2	CTAB-Extraktion / ProtK / Promega Wizard DNA CleanUp / Real-time PCR: 45 Zyklen	ja	
SFA	3	gemäß Kit-Anleitung	gemäß Kit-Anleitung	ja	
SFA	18			ja	
SFA-4p	20	Arachis hypogae	SureFood Prep Advanced Protokoll 1	nein	Artikelnr. S3402 (K01)
div	1	MT-ATP6	Wizard Genomic DNA Isolierung	nein	
div	13		CTAB / Proteinase K / Promega Wizard DNA-CleanUp / Realtime PCR / 45 Zyklen	ja	
div	23		Qiagen Mericon Extraktions-Kit, 45 Zyklen, Real-Time PCR	ja	

## 5.1.4 PCR: Walnuss

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					
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	PCR Test-Kit + Anbieter
MS	14	7.11.19	negativ		positiv	50	positiv	50	5	25	50	Walnuss	Microsynth
SFA	3	31.10.2019	negativ	<1	positiv	82,79	positiv	82,9	1	1	N/A	Walnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	16	28.10.19	negativ		positiv		positiv					Walnuss-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	18		negativ	<0,4	positiv		positiv		0,4			Walnuss DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	20	30.10.19	negativ		positiv		positiv		0,4		30	Walnuss	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
div	1	07.11.19	negativ		positiv		positiv					Walnuss-DNA	Auswahl PCR-Methoden
div	13	23.10.19	negativ		positiv		positiv		5			Walnuss-DNA	interne Methode
div	23		neg		pos		pos					Bitte auswählen!	Köppel et al., Eur Food Res Technol, 2012

\* 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	
MS	14	jug r2	CTAB-Extraktion / ProtK / Promega Wizard DNA CleanUp / Real-time PCR: 45 Zyklen	ja	
SFA	3	gemäß Kit-Anleitung	gemäß Kit-Anleitung	nein	
SFA	16	charakteristischer Sequenzabschnitt der Walnuss-DNA	Dotierungsprobe: SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen Probe A+B: Dneasy Mericon Food-Kit, QIAquick PCR Purification-Kit Qiagen/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen	ja	
SFA	18			ja	
SFA-4p	20	Juglans	SureFood Prep Advanced Protokoll 1	ja	Artikelnr. S3402 (K01)
div	1	Juglans regia Sucrose Transporter	Wizard Genomic DNA Isolierung	nein	
div	13		CTAB / Proteinase K / Promega Wizard DNA-CleanUp / Realtime PCR / 45 Zyklen	ja	
div	23		Qiagen Mericon Extraktions-Kit, 45 Zyklen, Real-Time PCR	ja	



## 5.1.5 LC-MS/MS: Erdnuss

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	mg/kg	mg/kg	%	z.B. Lebensmittel / Protein	
LC-MS/MS	4	18./20.11.2019	negativ	< 10	positiv	36,5	positiv	30,6	S/N > 3	10	40	Lebensmittel	LC-MS/MS

\* 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
LC-MS/MS	4	spezifische Peptide	Proteinextraktion mit anschließendem enzymatischen Verdau	nein	

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 06-2019 Dotierungsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,51	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	24,4	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
2	5,01	65	25,9
3	5,12	64	25,0
4	5,14	67	26,1
5	5,13	60	23,4
6	5,06	61	24,1
7	5,06	70	27,7
8	5,11	71	27,8
10	5,05	65	25,7

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	65,4	Partikel
Standardabweichung	3,94	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,66	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>98</b>	%
Wiederfindungsrate	105	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,7	mg/kg
Standardabweichung	1,55	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,02	%
Horwitz Standardabweichung	9,81	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,61</b>	
Wiederfindungsrate	105	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

<i>EP-Nummer</i>	<b>DLA 06-2019</b>
<i>EP-Name</i>	<b>Allergene VI: Erdnuss und Walnuss in Brotaufstrich (Kakaocreme)</b>
<i>Probenmatrix (Prozessierung)</i>	<b>Proben A + B:</b> <i>Nuss-Nougat-Creme/ Zutaten: Zucker, Palmöl, Haselnüsse (13%), Magermilchpulver, fettarmer Kakao, Emulgator Lecithine (Soja), Vanillin, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben)</i> <b>Dotierungsniveauprobe:</b> <i>Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel</i>
<i>Probenzahl und Probenmenge</i>	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
<i>Lagerungsinformation</i>	Proben A + B: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C) Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
<i>Verwendungszweck</i>	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
<i>Parameter</i>	qualitativ + quantitativ: Erdnuss (Erdnussprotein, DNA), Walnuss (Walnussprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
<i>Untersuchungsmethoden</i>	Methode ist freigestellt
<i>Hinweis zur Analyse</i>	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.
<i>Ergebnisangabe</i>	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
<i>Einheiten</i>	mg/kg
<i>Anzahl von Stellen</i>	mindestens 2 signifikante Stellen
<i>Ergebnisabgabe</i>	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
<i>Abgabetermin</i>	<b>spätestens 29. November 2019</b>
<i>Auswertebericht</i>	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
<i>Koordinator und Ansprechpartner der EP</i>	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
		SCHWEIZ
		Deutschland
		USA
		SCHWEIZ
		KANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		Deutschland
		SERBIEN
		SCHWEIZ
		SCHWEIZ
		SPANIEN
		ITALIEN
		GROSSBRITANNIEN
		ÖSTERREICH
		ÖSTERREICH
		USA
		SPANIEN
		GRIECHENLAND

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

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

## 7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über 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 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (*Prunus dulcis*) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of almond (*Prunus dulcis*) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  33. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (*Bertholletia excelsa*) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (*Bertholletia excelsa*) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  34. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]

**DLA 06/2019 - Allergene VI**

Alle 24 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Erdnuss und Walnuss für ELISA- (qualitativ und quantitativ), PCR-Methoden (qualitativ) und LC-MS/MS-Methoden (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. 16 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Griechenland, Großbritannien, Italien, Österreich, Schweiz, Serbien, Spanien), ein Teilnehmer in Kanada und zwei in den USA.