



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA 10/2019**

**Allergene X:**

**Gluten aus Hartweizen**

**in "glutenfreien" Nudeln**

***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 / Alexandra Scharf MSc.*

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b>          Kalte Weide 21, 24641 Sievershütten, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf          Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358          Mob. ++49(0)171-1954375          Fax. ++49(0)4102-9944976          eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 10/2019
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (18. Oktober 2019)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen.          Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager)          - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i>          Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager)          - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i>          Datum / Date: 18. Oktober 2019</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben.</p> <p>In case the analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben.</p> <p>Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	6
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	7
2.3 Ergebnisübermittlung.....	7
3. Auswertung.....	8
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	8
3.2 Robuste Standardabweichung.....	9
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	9
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	10
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	10
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision .....	10
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen .....	13
3.5 z-Score.....	14
3.6 z'-Score.....	15
3.7 Quotient $S^*/\sigma_{pt}$ .....	15
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	15
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	16
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	16
4. Ergebnisse.....	17
4.1 Vergleichsuntersuchung Hartweizen (Gluten).....	19
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten.....	19
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Hartweizen / Gluten.....	25
4.1.3 Weitere Ergebnisse: Gluten.....	26
5. Dokumentation.....	27
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	27
5.1.1 ELISA: Gluten.....	27
5.1.2 PCR: Weizen/ Gluten.....	29
5.1.3 Weitere Ergebnisse: Gluten.....	30
5.2 Homogenität.....	31
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	31
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	32
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	33
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	34

## 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 zur Verfügung gestellt. Einer der beiden LVU-Proben (dotierte Probe) wurde die betreffende allergene Zutat zugesetzt.

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um handelsübliche "glutenfreie" Nudeln. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

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

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

Das Dotierungsmaterial, Nudeln aus Hartweizen, wurde zerkleinert und mittels Zentrifugalmühle gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in zwei weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B
"Glutenfreie" Nudeln Zutaten: Maismehl, Emulgator: Mono- und Diglyceride von Fettsäuren Nährwertangaben pro 100 g: Fett 1,0 g, Kohlenhydrate 79 g, Ballaststoffe 2,0 g, Eiweiß 6,5 g, Salz 0,03 g	100 g/100 g	99,95 g/100g
Nudeln, Bio Zutaten: Hartweizengrieß	-	
- als Hartweizen*		544 mg/kg
- davon 12% Gesamtprotein**		65,6 mg/kg
- davon Gluten***		41,9 mg/kg

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

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

\*\*\* Gehalt gemäß Literaturangaben berechnet: ca. 7,7% Gluten in Hartweizen [36]

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

### 2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in  $\mu\text{m}$ -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von  $\geq 5\%$  ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von  $\geq 25\%$  mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe B hat eine Wahrscheinlichkeit von 84% 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 1,3 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### 2.1.2 Stabilität

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

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

Der  $a_w$ -Wert der EP-Proben lag bei ca. 0,47 (24,0°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 26. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 23. August 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 dem allergenen Parameter Gluten im mg/kg Bereich in der Matrix glutenfreie Nudeln. Eine der beiden Proben wurde mit der allergenen Zutat hergestellt.*

*Hinweis: Die Probenmatrix wurde mittels Schlagmühle (mesh <1,5 mm) zerkleinert. Entsprechend weist sie eine relativ breite Teilchengrößenverteilung auf. Daher soll vor der Analyse jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert 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 16 Teilnehmer haben Ergebnisse abgegeben.

### 3. Auswertung

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

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

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

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

#### 3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

Einzelresultate 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 Einzelmethoden** -  $S^*_{METHOD\ i}$   
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

### 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

### 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

Die Zielstandardabweichung des zugewiesenen Wertes  $\sigma_{pt}$  (= 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 Analysenmethoden 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.

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

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

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

#### 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [18-24]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% <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 angeben:

- 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 Analysemethoden, 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

tes 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 Einzelmethode andererseits.

### 3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

Für die Ergebnisse der dotierten Probe wird eine Wiederfindungsrate 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) angegeben. Die Wiederfindungsraten der Ergebnisse 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.

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

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

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

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

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

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

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

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Gluten

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

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
5a	negativ	<3,12	positiv	57,0	2/2 (100%)	EF	
8	negativ	<0,8	positiv	148	2/2 (100%)	IL	
10	positiv	63,3	positiv	415	1/2 (50%)	IL	
2	negativ	<3	positiv	19,3	2/2 (100%)	RS	
4	negativ		positiv	22,2	2/2 (100%)	RS	
5b	negativ	<5	positiv	30,0	2/2 (100%)	RS	
7	negativ	<3	positiv	25,0	2/2 (100%)	RS	
9	negativ		positiv	25,2	2/2 (100%)	RS	
11	negativ		positiv	36,5	2/2 (100%)	RS	
13	negativ	<5,00	positiv	43,4	2/2 (100%)	RS	
14a	negativ	< 5,0	positiv	21,8	2/2 (100%)	RS	
14b	negativ	< 5,0	positiv	22,4	2/2 (100%)	RS	
15	negativ		positiv	45,0	2/2 (100%)	RS	
16	negativ	< BG	positiv	31,0	2/2 (100%)	RS	
12	negativ	< 10	positiv	94,0	2/2 (100%)	RS-C	
6	negativ	<10	positiv	21,1	2/2 (100%)	RS-F	
1a	negativ	<5	positiv	40,0	2/2 (100%)	VT	
1b	negativ	<5	positiv	50,0	2/2 (100%)	VT	
3	positiv	12,4	positiv	31,4	1/2 (50%)	VT	Mittelwert von DLA berechnet

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	2	19
Anzahl negativ	17	0
Prozent positiv	11	100
Prozent negativ	89	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Gluten [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>RS</sub>	Methode	Hinweis
5a	57,0	2,0		EF	
8	148	12		IL	
10	415	40		IL	
2	19,3	-2,0	-1,4	RS	
4	22,2	-1,6	-0,95	RS	
5b	30,0	-0,82	0,12	RS	
7	25,0	-1,3	-0,57	RS	
9	25,2	-1,3	-0,55	RS	
11	36,5	-0,13	1,0	RS	
13	43,4	0,60	2,0	RS	
14a	21,8	-1,7	-1,0	RS	
14b	22,4	-1,6	-0,93	RS	
15	45,0	0,77	2,2	RS	
16	31,0	-0,71	0,25	RS	
12	94,0	6,0		RS-C	
6	21,1	-1,8		RS-F	
1a	40,0	0,24		VT	
1b	50,0	1,3		VT	
3	31,4	-0,67		VT	

**Methoden:**

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

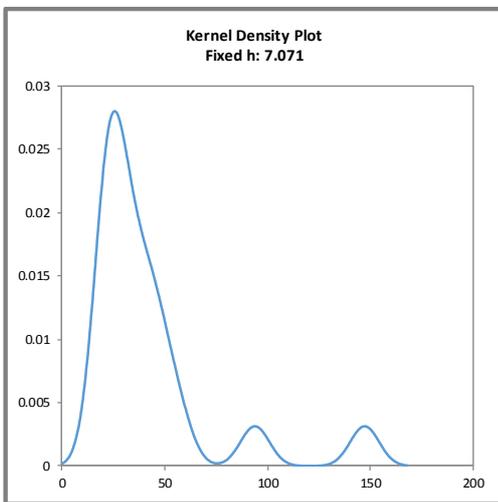
IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 1:**

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

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

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit drei Nebenpeaks, die auf Einzelergebnisse außerhalb des Zielbereichs zurückgehen (Nebenpeak bei ca. 400 mg/kg nicht dargestellt).

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

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$	$X_{pt\_METHOD\ RS}$
Anzahl der Messergebnisse	19	11
Anzahl der Ausreißer	-	0
Mittelwert	62,0	29,2
Median	31,4	25,2
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>37,7</b>	<b>29,2</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>18,3</b>	<b>9,88</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>9,43</b>	<b>7,29</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>18,9</b>	<b>14,6</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>56,6</b>	<b>43,7</b>
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>	<i>1,9</i>	<i>1,4</i>
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>	<i>5,24</i>	<i>3,73</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>16</i>	<i>10</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>84</i>	<i>91</i>

**Methoden:**

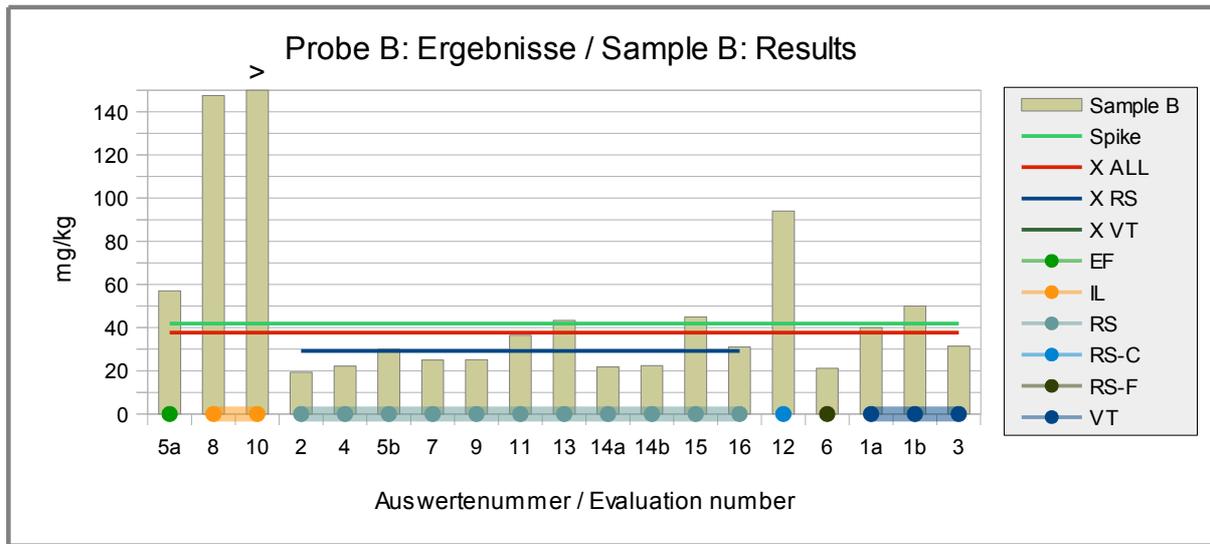
RS = R-Biopharm, Ridascree®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

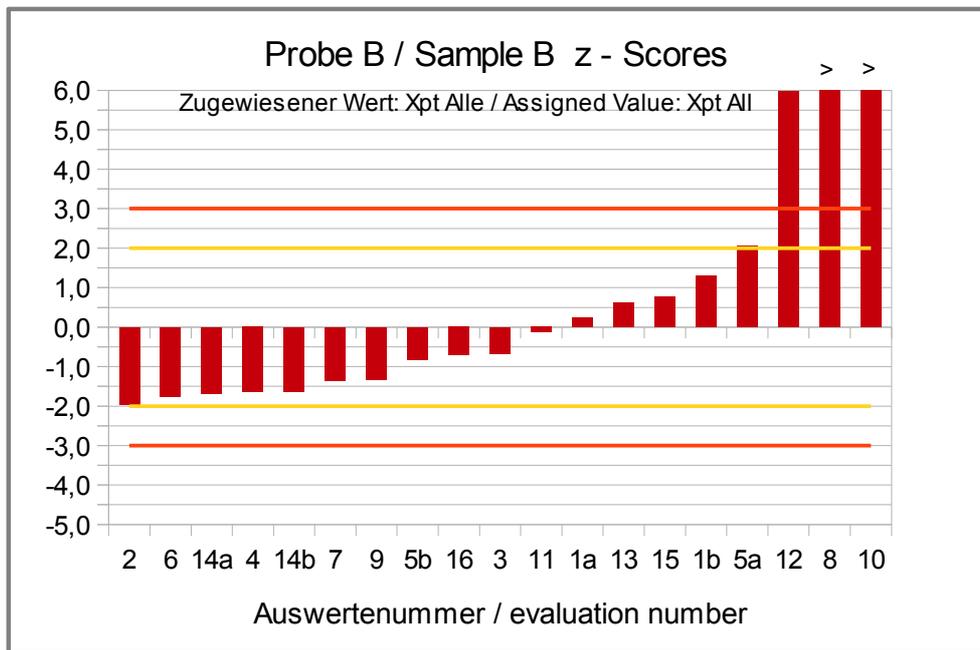
Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung mit Einzelwerten oberhalb des Zielbereichs.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode RS zeigten eine normale Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten  $S^*/\sigma_{pt}$  lagen unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt für die Ergebnisse aller Methoden oberhalb und für die Ergebnisse von Methode RS 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 für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

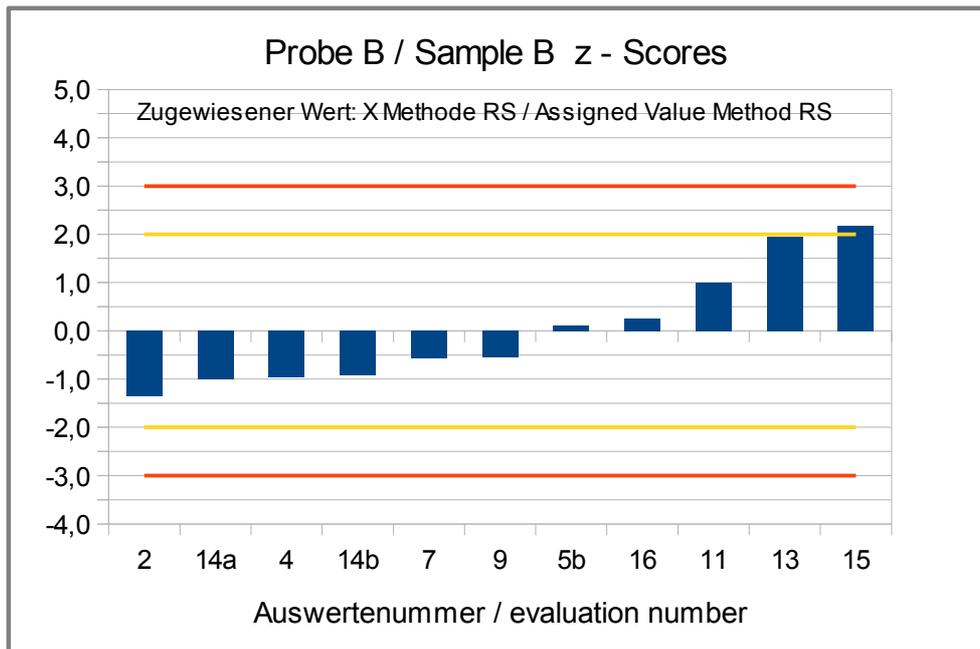
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 90% bzw. 70% vom Zusatzniveau von Gluten zu Probe B, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und "Wiederfindungsraten ELISA für Gluten" S.24).



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



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



**Abb./Fig. 4:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Gluten)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS (R-Biopharm, Ridascreen)

**Wiederfindungsraten ELISA für Gluten:**

Auswertenummer	Probe B [mg/kg]	Wiederfindungsrate* [%]	Methode	Hinweis
5a	57,0	136	EF	
8	148	352	IL	
10	415	991	IL	
2	19,3	46	RS	
4	22,2	53	RS	
5b	30,0	72	RS	
7	25,0	60	RS	
9	25,2	60	RS	
11	36,5	87	RS	
13	43,4	104	RS	
14a	21,8	52	RS	
14b	22,4	53	RS	
15	45,0	107	RS	
16	31,0	74	RS	
12	94,0	224	RS-C	
6	21,1	50	RS-F	
1a	40,0	95	VT	
1b	50,0	119	VT	
3	31,4	75	VT	

AB**	50-150 %
Anzahl im AB	15
Prozent im AB	79

**Methoden:**

EF-R5 = SensiSpec Ingezim Gluten R5, Eurofins

IL = Immunolab

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-C = Ridascreen® competitive, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT-R5 = Veratox, Neogen

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Anmerkung:**

79% (15) der Teilnehmer haben für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

#### 4.1.2 PCR-Ergebnisse: Hartweizen / Gluten

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

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
11	positiv		positiv		1/2 (50%)	SFA	Probe A: positiv < BG (1 mg/kg)
1a	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
1b	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
4	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	1	6
Anzahl negativ	5	0
Prozent positiv	17	100
Prozent negativ	83	0
Konsenswert	negativ	positiv

##### Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, 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. Ein positives Ergebnis für Probe A wurde mit der Methode SFA (Sure Food Allergen) erhalten.

##### Quantitative Auswertung PCR: Probe B

Eine quantitative Auswertung der Ergebnisse erfolgte nicht, weil keine quantitativen Einzelergebnisse vorlagen.

### 4.1.3 Weitere Ergebnisse: Gluten

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

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
16	negativ		positiv		2/2 (100%)	RQ	

	Probe A		Probe B	
Dotierung	negativ		positiv	

#### Methoden:

RQ = RIDA®QUICK (Lateral Flow), R-Biopharm

#### Anmerkung:

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

## 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: Gluten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat									ELISA Test-Kit + Anbieter
EF	5a	30.07.19	negativ	<3,12	positiv	57	3,12	3,12		Gluten	SENSISpec Ingezim Gluten R5 30.GLU.K2, Eurofins
IL	8	04.07.19	negativ	<0,8	positiv	147,5				Gluten	Immunolab Gliadin/Gluten ELISA
IL	10	16.07.19	positiv	63,27	positiv	415,3	0,3	2		Gluten	Immunolab Gliadin/Gluten ELISA
RS	2	23.08.19	negativ	<3	positiv	19,27	3	3	31,94	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	4	25.07.19	negativ		positiv	22,2	5	5	23	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	5b	03.07.19	negativ	<5	positiv	30	3	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	7	25.07.19	negativ	<3	positiv	25	1,5	3	95	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	9		negativ		positiv	25,17	3	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	11	07.08.19	negativ		positiv	36,5	3	5	30	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	13	10.07.19	dd	<5,00	-	43,4				Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	14a	08.07.	negativ	< 5,0	positiv	21,8	1	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	14b	08.07.	negativ	< 5,0	positiv	22,4	1	5		Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	15	11.07.19	negativ		positiv	45	5	5	43	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS	16	08.07.19	-	< BG	-	31	1	5	10	Gluten	Ridascreen® Gliadin R7001, R-Biopharm
RS-C	12	26.07.19	negativ	< 10	positiv	94				Gluten	Ridascreen® Gliadin competitive R7021, R-Biopharm
RS-F	6	21.08.19	negativ	<10	positiv	21,14	1	10		Gluten	Ridascreen® FAST Gliadin R7002, R-Biopharm
VT	1a	23.7./27.8.19	negativ	<5	positiv	40	5	5		Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen
VT	1b	23./24.07.19	negativ	<5	positiv	50	5	5		Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen
VT	3	22.08.19	Positiv	12,2	Positiv	35,6	2	3,73	12,9	Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen
VT	3	22.08.19	Positiv	12,6	Positiv	27,2	2	3,73	12,9	Gluten	Veratox Gliadin R5, Neogen

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Gluten:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
EF	5a	R5 Mendez, erkennt Prolamine aus Weizen, Roggen und Gerste	lt. Herstellerangaben	nein	
IL	8				
IL	10		40% Ethanol /5 min/22°C	ja	
RS	2	Nach Kit-Anleitung	Nach Kit-Anleitung	ja	
RS	4	R5 (gegen Prolamine von Weizen, Roggen, Gerste)		ja	
RS	5b	R5 Mendez, erkennt Prolamine aus Weizen, Roggen und Gerste	lt. Herstellerangaben	ja	
RS	7		Cocktail Lösung r-biopharm	ja	
RS	9			ja	
RS	11		laut Manual	ja	Spezifität: Prolamine aus Weizen (Gliadin), Roggen und Gerste
RS	13	R5	Cocktail (patented) R7006 für Probenaufarbeitung verwendet, Auswertesoftware Version 1.106.0.0240beta	nein	1. Ringversuch für Validierung ELISA
RS	14a	nach Herstelleranleitung mit Cocktaillösung/Ethanol	ja		
RS	14b	nach Herstelleranleitung mit Magermilchpulver Cocktaillösung/Ethanol	ja		
RS	15	R5 Antikörper	gemäß Handbuch	ja	
RS	16	monoklonaler R5.Antikörper	Cocktail (patent -R7006)/ nach Vorschrift Testkit-Hersteller	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	
RS-C	12	R5	60% Ethanol + Fischgelatine / 20 min / Raumtemperatur	ja	AR Ergebnisse
RS-F	6	Peroxidase-gekoppelten R5 Antikörper	Rida Extraction Solution (colorless) Art. Nr R7098 / Methode nach Arbeitsanweisung von R-biopharm	nein	
VT	1a	Gliadin R5	Protokoll für hitzebehandelte Proben	ja	
VT	1b	Gliadin R5	Protokoll für nicht hitzebehandelte Proben	ja	
VT	3	R5	0,25 g + 2,5 mL renaturierende Cocktail-Lösung (w / Extraktionsadditive); Inkubation bei 50°C, 40 min; finales Volumen 10 mL; Verdünnung 1:12,5.		
VT	3	R6	0,25 g + 2,5 mL renaturierende Cocktail-Lösung (w / Extraktionsadditive); Inkubation bei 50°C, 40 min; finales Volumen 10 mL; Verdünnung 1:12,5.		

**5.1.2 PCR: Weizen/ Gluten**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg					
											PCR Test-Kit + Anbieter
SFA	9		negativ		positiv		0,4			Gluten	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	11	04.07.19	positiv		positiv		0,4	1	30	glutenhaltige Getreide	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
div	1a	15.08.19	negativ		positiv					Weizen-DNA	realtime PCR
div	1b	15.08.19	negativ		positiv					Weizen-DNA	realtime PCR
div	4		negativ		positiv					Bitte auswählen!	Alary et al. 2002. Quantification of common wheat adulteration of durum wheat pasta using real-time quantitative Polymerase chain reaction. Cereal Chem 79 (4) 553-558
div	16	15.07.19	negativ		positiv		-	-	-	Weizen-DNA	ALARY et al. 2002

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	9			nein	
SFA	11	Weizen wie Dinkel und Khorasan-Weizen, Roggen, Gerste, Hafer	SureFood Prep Advanced Protokoll 1	ja	das Ergebnis für Probe A wurde unterhalb der BG und oberhalb der NWG ermittelt Artikelnr.: S3606
div	1a	Gliadin-Gen		ja	Nachweisgrenze: 10-20 DNA-Kopien
div	1b	HMW-Glutenin-Gen		nein	Nachweisgrenze: 10-20 DNA-Kopien
div	4				
div	16	Lipid-Transfer Protein-Gen (Ltp)	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	

**5.1.3 Weitere Ergebnisse: Gluten**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			positiv / negativ	mg/kg	positiv / negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg			
RQ	16	04.07.19	negativ		positiv		ca. 6,3			Gluten	Test-Kit + Anbieter / Literatur RIDA® QUICK Gliadin R7003, R-Biopharm

\* 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
RQ	16	monoklonaler R5.Antikörper	Cocktail (patent -R7006)/ nach Vorschrift Testkit-Hersteller	ja (nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005)	

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA 10/2019 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	2,80	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	21,3	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	18	7,2
2	5,07	18	7,1
3	5,15	22	8,5
4	5,00	24	9,6
5	5,37	18	6,7
6	4,80	20	8,3
7	5,09	15	5,9
8	5,09	22	8,6

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	19,7	Partikel
Standardabweichung	3,10	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	3,42	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>84</b>	%
Wiederfindungsrate	36	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	7,8	mg/kg
Standardabweichung	1,22	mg/kg
rel. Standardabweichung	15,8	%
Horwitz Standardabweichung	11,8	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>1,3</b>	
Wiederfindungsrate	36	%

### 5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

<i>EP-Nummer</i>	<b>DLA 10-2019</b>
<i>EP-Name</i>	<b>Allergene X: Gluten aus Hartweizen in „glutenfreien“ Nudeln</b>
<i>Probenmatrix (Prozessierung)</i>	<b>Proben A + B:</b> "Glutenfreie" Nudeln/ Zutaten: Maismehl, Emulgator: Mono- und Diglyceride von Speisefettsäuren und Allergene Lebensmittel Hartweizennudeln (eine der beiden Proben)
<i>Probenzahl und Probenmenge</i>	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g
<i>Lagerungsinformation</i>	Proben A + B: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C)
<i>Verwendungszweck</i>	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
<i>Parameter</i>	qualitativ + quantitativ: Gluten / Weizen (Protein / DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg (als Gluten)
<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. Von den <b>Proben A + B</b> soll jeweils die <b>Gesamtmenge homogenisiert</b> werden.
<i>Ergebnisangabe</i>	Es werden für jede Probe A und B je ein Ergebnis ermittelt. Die Ergebnisse 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 23. August 2019</b>
<i>Auswertebereicht</i>	Der Auswertebereicht 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. Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.

## 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		ITALIEN
		SCHWEIZ
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		ARGENTINIEN
		GROSSBRITANNIEN
		GRIECHENLAND
		ÖSTERREICH
		Deutschland

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

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

## 7. Verzeichnis relevanter Literatur

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

- Foodstuffs - Detection of food allergens by immunological methods - Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 1: General considerations
  21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen - Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of methods
  22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
  23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
  24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
  25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
  26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes<sup>1</sup>, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
  27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
  28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
  29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
  30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
  31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
  32. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, determination of soya (Glycine max) in cereal flour by real-time PCR]
  33. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
  34. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white

- mustard (*Sinapis alba*), celery (*Apium graveolens*) and soya (*Glycine max*) in boiled sausages by real-time PCR]
35. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (*Triticum L.*) und Roggen (*Secale cereale*) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of wheat (*Triticum L.*) and rye (*Secale cereale*) in boiled sausages by real-time PCR]
36. Geisslitz et al. (2019) Comparative Study on Gluten Protein Composition of Ancient (Einkorn, Emmer and Spelt) and Modern Wheat Species (Durum and Common Wheat), *Foods* 8(9):409(1-14)

**DLA 10/2019 - Allergene X**

Alle 16 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich des Parameters Gluten für ELISA- (qualitativ und quantitativ), PCR-Methoden (qualitativ) und weiteren Ergebnissen (Lateral Flow, qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

6 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Griechenland, Großbritannien, Italien, Österreich, Schweiz) und ein Teilnehmer in Argentinien.