



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 14/2019

Response PT Mandel:

**5 prozessierte Proben Mandeln
(ungeröstet), Mandeln (geröstet), Marzipan,
Mandelbrotaufstrich und Mandelmilch**

in Kartoffelpulver-Matrix

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>DLA - Proficiency Tests GmbH 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 14/2019
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (11. November 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 PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i></p> <p>Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i></p> <p>Datum / Date: 11. November 2019</p>
<i>Unteraufträge 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 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.....	5
2.1 Untersuchungsmaterial.....	5
2.1.1 Homogenität.....	7
2.1.2 Stabilität.....	7
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	8
2.3 Ergebnisübermittlung.....	8
3. Auswertung.....	9
3.1 Qualitativer Score.....	10
3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score).....	10
3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision	11
3.2.2 Werte aus Erkenntnissen	13
4. Ergebnisse.....	14
4.1 Vergleichsuntersuchung prozessierte Mandelprodukte.....	15
4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden.....	15
4.1.2 Qualitative Scores: PCR-Methoden.....	16
4.1.3 Qualitative Scores: LC-MS/MS-Methoden.....	16
4.1.4 Quantitativ: ELISA-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores).....	17
4.1.5 Quantitativ: PCR-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores).....	18
4.1.6 Quantitativ: LC/MS-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores).....	19
5. Dokumentation.....	22
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	22
5.1.1 ELISA-Methoden.....	22
5.1.2 PCR-Methoden.....	24
5.1.3 LC/MS-Methoden.....	26
5.2 Homogenität.....	27
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	27
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	30
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	31
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	32

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].

Das vorliegende Eignungsprüfungs-Format „**Response PT – Allergene**“ bietet die Möglichkeit anhand von jeweils 5 unterschiedlich prozessierten Produkten eines Allergens in einfacher Trägermatrix sowie einer „Nullprobe“ nachzuweisen, dass mit der analytischen Bestimmungsmethode des teilnehmenden Labors die betreffenden prozessierten Allergene qualitativ erfasst werden können und quantitative Response-Faktoren für die jeweiligen prozessierten Produkte zu ermitteln.

Um eine Vergleichbarkeit der prozessierten Produkte zu gewährleisten werden die Allergen-Konzentrationen der PT-Probenreihe als Mandel-Gehalt auf ein annähernd gleiches Niveau eingestellt. Die Auswertung der PT-Ergebnisse erfolgt qualitativ in Scores von 1-5 (Score 5 = alle Prozessierungen erfolgreich erfasst). Quantitative Ergebnisse werden unter Angabe der erzielten Wiederfindungsrate informativ mit einem Wiederfindungs-Score im Bericht angegeben.

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden sechs LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und ggf. die quantitative Bestimmung von Mandel in ungerösteten und gerösteten Mandeln, Marzipan, Mandelbrotaufstrich und Mandelmilch in Kartoffelpulver/Maltodextrin zur Verfügung gestellt.

Die jeweiligen Rohstoffe für die Probenreihe waren handelsübliche teils prozessierte Mandelprodukte. Pro PT-Probe wurden jeweils 5-19 Produkte unterschiedlicher Herkunft verarbeitet.

Es wurden Vormischungen mit Gehalten von ca. 1,0-10 % der betreffenden allergenen Zutaten hergestellt (s. Tab. 1). Hierzu wurden die Produkte ggf. luftgetrocknet (Mandelmilch 40°C), vorzerkleinert, gravimetrisch gemischt und homogenisiert. Anschließend wurden die Rohstoffe mit weiteren Zutaten versetzt und mittels Kugelmühle weiter zerkleinert und homogenisiert. Die Allergen-Vormischungen wurden anschließend zur Trägermatrix Kartoffelpulver / Maltodextrin (mesh < 500 µm) gegeben und homogenisiert. Ein Aliquot der Trägermatrix wurde als „Null“-Probe abgenommen.

Die 6 PT-Proben wurden zu Portionen von ca. 20 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Die Mandel-Gehalte der PT-Probenreihe lagen im Bereich von 29 bis 48 mg/kg (s. Tabelle 1).

Jeder zugewiesene Wert, hier die dotierten Allergen-Gehalte, sind mit einer Standardunsicherheit behaftet. Als Unsicherheiten wurden u.a. folgende Faktoren berücksichtigt: Proteingehalt des Dotierungsmaterials, Mischungshomogenität, Homogenität und Stabilität von Mandelprotein.

Alle Unsicherheitsbeiträge wurden in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und als Varianzen addiert. Die Wurzel aus der Summe der Gesamtvarianzen ergibt die kombinierte Unsicherheit "Uc", die mit dem Erweiterungsfaktor k=2 multipliziert die erweiterte Unsicherheit der zugewiesenen Werte " $U(X_{pt})$ " ergibt [3, 13, 16 - 17].

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

PT-Probenreihe	Probe 1 Mandel roh	Probe 2 Mandel- milch	Probe 3 Marzipan	Probe 4 Mandel geröstet	Probe 5 Mandel- Schoko- Creme	Probe 6 „Null“
Zutaten	g/100 g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100 Nährwertangaben pro 100 g: Protein 8,3 g, Kohlenhydrate 76 g, Fett 0,6 g, Salz 0,15 g	75	75	75	75	75	75
Maltodextrin	25	25	25	25	25	25
Allergen-Vormischungen Zutaten: Maltodextrin (45% - 90%), Titandioxid (<50%), Si- liciumdioxid (< 3,0%), prozes- sierte Allergenprodukte (je 1,0% - 10% Mandel)	0,039	0,21	0,17	0,043	0,41	-
Allergen-Gehalte	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Mandel, roh* Protein 20,5 % ** (18 Produkte, 5 Länder, USA, Europa, Australien, Vorderasien)	39,5	-	-	-	-	-
Mandelmilch* (3,0% Mandeln und Wasser, Zucker, Salz und weitere Zusatzstoffe) Protein 0,626 % ** (5 Produkte, Europa, Asien)	-	103 (Trocken- masse)	-	-	-	-
Marzipan* (62% Mandeln und Zucker, Invertzuckersirup, Glu- cosesirup, Alkohol, Invertase) Protein 13,1 % ** (5 Produkte, Europa)	-	-	65,6	-	-	-
Mandel, geröstet* Protein 21,1 % ** (19 Produkte, 6 Länder, USA, Europa, Australien, Vorderasien)	-	-	-	42,9	-	-
Mandel-Schoko-Creme* (12% Mandeln und weitere Zutaten u.a. Magermilchpulver, Molken- protein, Kakao, Haselnüsse) Gesamtprotein 10,3 % *** (5 Produkte, Europa)	-	-	-	-	400	-
- als Mandel	39,5	29,7	40,7	42,9	48,1	-
erweiterte kombinierte Unsicherheit (k=2) des Man- del-Gehalts (= ± 13 %)	± 5,14	± 3,86	± 5,90	± 5,29	± 6,25	-

*Gehalte als „Lebensmittel“ wie in Spalte „Zutaten“ angegeben gemäß gravimetrischer Mi-
schung

** Proteingehalt gemäß Laboranalyse der Rohstoffmischungen bezogen (Gesamtstickstoff nach
Kjeldahl mit F=5,18 für Mandelprotein)

*** Proteininhalt berechnet gemäß Deklaration der Produkte (neben Mandel sind weitere
Proteinquellen enthalten)

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

2.1.1 Homogenität

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

Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben 1-5 hat eine Wahrscheinlichkeit von 85%, 85%, 90%, 51% bzw. 100% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,8, 0,7, 0,7, 1,0 bzw. 0,5 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 Degraderationsrate zu erwarten [16].

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. 0,32 (21,0°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 16. Kalenderwoche 2019 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 6 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 31. Mai 2019.

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

Es handelt sich um fünf unterschiedliche Proben mit ähnlichen Gehalten an dem unterschiedlich prozessierten allergenen Parameter Mandel in einfacher Trägermatrix sowie eine „Null“-Probe (Trägermatrix).

- *Die Proben 1-5 sind in zufälliger Reihenfolge nummeriert und enthalten Mandeln (ungeröstet), Mandeln (geröstet), Marzipan, Mandelbrotaufstrich und Mandelmilch.*
- *Bitte geben Sie alle quantitativen Ergebnisse als Gesamt-Mandel, soweit möglich unter Angabe des zugrundeliegenden Gehalts an Gesamt-Protein in Mandel an.
Mögliche Umrechnungsfaktoren auf die prozessierten Mandelprodukte werden separat in der Ergebnisabgabedatei abgefragt.*

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

2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich auf, an die Teilnehmer versandten Übermittlungsbögen bzw. -dateien. 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.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, 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 12 Teilnehmer haben fristgerecht 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 [26-29, 40]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

In der vorliegenden LVU wurden von dem Allergen Mandel fünf verschiedenartig prozessierte Produkte, *Mandel (ungeröstet)*, *Mandel (geröstet)*, *Marzipan*, *Mandelbrotaufstrich* und *Mandelmilch* zur Verfügung gestellt, um die qualitative Nachweisbarkeit und die Response in der quantitativen Bestimmung der eingesetzten Methoden ermitteln zu können.

Die Teilnehmer-Ergebnisse werden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden.

Die quantitativen Teilnehmer-Ergebnisse werden mit einem Wiederfindungs-Score (*WFR-Score*) bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen.

3.1 Qualitativer Score

Die qualitative Bewertung der Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgt mit Scores von 1 - 5 anhand der Anzahl der Übereinstimmungen der Angaben „positiv“ oder „negativ“ mit den **Dotierungen der LVU-Probenreihe** (siehe Tab. 2). Ein Score von 5 bedeutet, dass alle prozessierten Produkte erfolgreich erfasst wurden.

Die Ergebnisse der Matrixprobe 6 („Null“-Probe) werden nicht bewertet, sofern das betreffende Teilnehmerergebnis in Übereinstimmung mit $\geq 75\%$ positiver oder negativer Ergebnisse der Teilnehmer steht (Konsenswert) oder das Ergebnis unterhalb der Bestimmungsgrenze der eingesetzten Methode liegt.

Tabelle 2: Bewertung der Ergebnisse anhand von qualitativen Scores

Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6	Score	Eignung
Mandel, roh	Mandel-milch	Marzipan	Mandel, geröstet	Mandel-Schoko-Creme	„Null“	qualitativ	qualitativ
pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5	
negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	0 (0%)	nicht erfolgreich
negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	1 (20%)	1 Produktgruppe
negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	2 (40%)	2 Produktgruppen
negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	3 (60%)	3 Produktgruppen
negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	4 Produktgruppen
positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	5 Produktgruppen

3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)

Die Bewertung der quantitativen Ergebnisse jedes Teilnehmers für die **dotierten LVU-Proben** erfolgt anhand der Anzahl von Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich und anhand von Wiederfindungs-Scores (*WFR-Scores*). Die Angabe der WFR-Scores wird als Anzahl von Ergebnissen im Akzeptanzbereich (s.u.) pro Anzahl quantitativ bestimmter Proben vorgenommen. Dahinter wird in Klammern der entsprechende Prozentsatz angegeben.

Die Wiederfindungsraten werden in Bezug auf das jeweilige zugesetzte prozessierte Allergen (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten der Proben 1 bis 5. 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 [21]. Für quantitative PCR-Bestimmungen sowie LC/MS wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

Es werden nur exakte quantitative Angaben berücksichtigt. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder $< 2,5$ mg/kg) oder die Angabe „0“ werden nicht berücksichtigt.

Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen u.a. einer Einschätzung von Prozessierungseinflüssen.

3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision

In Ringversuchen der ASU §64 Methoden wurden abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich Wiederfindungsraten im Bereich von 57 – 119% für die ELISA-Methoden und 43 – 121% für die PCR-Methoden erhalten (s. Tab. 3a und 3b). Die angegebenen Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden für eine Anzahl von $m = 2$ Wiederholmessungen berechnet.

Tabelle 3a: ELISA-Methoden – Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [33-34]

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%	

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 [30]. 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 [30].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [33]. 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 3b: PCR-Methoden – Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [35-37]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD_r	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> 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 <small>multiplex</small> ASU 18.00-22

3.2.2 Werte aus Erkenntnissen

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 [25], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [22-24], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [26] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [21] erarbeitet worden.

Die hier relevanten ELISA- bzw. PCR-Validierungskriterien der Gremien sind in den Tabellen 4 und 5 angegeben.

Tabelle 4: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [21-26]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2% ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 5: PCR-Validierungskriterien

Literatur [20]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	± 25% ^(a)	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir i.d.R. eine relative Zielstandardabweichung σ_{pt} Wert von 25% und für die Wiederfindungsrate entsprechend 50-150% fest.

4. Ergebnisse

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

Es erfolgte eine getrennte Auswertung von ELISA- (und Lateral Flow), PCR- und LC/MS-Methoden.

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.

Die **Vergleichbarkeit der quantitativen Ergebnisangaben** war gegeben, da alle ELISA-, PCR- und LC/MS-Ergebnisse als Mandel angegeben waren. Eine Umrechnung der Ergebnisse war nicht erforderlich.

Die qualitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		

Die quantitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Probe 1		Probe 2		Probe 3		Probe 4		Probe 5		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *											
	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**										

* Wiederfindungsrate

4.1 Vergleichsuntersuchung prozessierte Mandelprodukte

4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh	Probe 2 Mandel- milch	Probe 3 Marzipan	Probe 4 Mandel, geröstet	Probe 5 Mandel- Schoko- Creme	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
8	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	AQ	
9b	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	AQ	
10	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	AQ	
2a	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	AQ-P	entspr. Methode ELISAFast; Probe 2 positiv < NWG
2b	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	AS	Probe 2 positiv < NWG
1	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	BF	
12	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	IL	
7	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	RS-F	
9a	positiv	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	RS-F	
3	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	
4	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	11	3	11	11	11	0
Anzahl negativ	0	8	0	0	0	11
Prozent positiv	100	27	100	100	100	0
Prozent negativ	0	73	0	0	0	100
Konsenswert	positiv	keiner	positiv	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs
 AS = AgraStrip (Lateral Flow), RomerLabs
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 IL = Immunolab
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Proben 1 und 3-5 wurden mittels ELISA-Methoden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen erhalten. Für die prozessierte Probe 2 (Mandelmilch) wurden überwiegend negative Ergebnisse jedoch kein Konsenswert von $\geq 75\%$ erhalten.

4.1.2 Qualitative Scores: PCR-Methoden

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh	Probe 2 Mandelmilch	Probe 3 Marzipan	Probe 4 Mandel, geröstet	Probe 5 Mandel-Schoko-Creme	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
7	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	4 (80%)	ASU	Probe 2 Spuren
10b	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	4 (80%)	ASU	
11	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ	4 (80%)	ASU	
5a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	GI	
5b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	GI-3	
6a	negativ	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ	2 (40%)	SFA	Probe 1 schwach positiv
10a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SFA	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	6	6	7	3	7	0
Anzahl negativ	1	1	0	4	0	7
Prozent positiv	86	86	100	43	100	0
Prozent negativ	14	14	0	57	0	100
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	keiner	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 GI = GEN-IAL First Allergen
 GI-3 = GEN-IAL First Allergen Triplex Nut
 SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

Anmerkung:

Für die Proben 3 (Marzipan) und 5 (Mandel-Schoko-Creme) wurden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen mittels PCR-Methoden erhalten. Für die Proben 1 (Mandel, roh) und 2 (Mandelmilch) wurden Konsenswerte von 86% positiven Ergebnissen erhalten.
 Für Probe 4 (Mandel, geröstet) wurde kein Konsenswert von ≥ 75% erhalten.

4.1.3 Qualitative Scores: LC-MS/MS-Methoden

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh	Probe 2 Mandelmilch	Probe 3 Marzipan	Probe 4 Mandel, geröstet	Probe 5 Mandel-Schoko-Creme	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
6b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	LC-MS/MS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

LC-MS/MS = Flüssigchromatographie
 -Massenspektrometrie

Anmerkung:

Alle prozessierten Produkte (Proben 1 bis 5) wurden von einem Teilnehmer mittels der LC-MS/MS-Methode als positiv nachgewiesen.

4.1.4 Quantitativ: ELISA-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh		Probe 2 Mandelmilch		Probe 3 Marzipan		Probe 4 Mandel, geröstet		Probe 5 Mandel-Schoko-Creme		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**		
8	35,7	90	<LOD		38,8	95	25,8	60	22,1	46	3/5 (60%)	AQ	
9b	38,6	98	< 0,4		42,9	105	32,4	76	19,3	40	3/5 (60%)	AQ	
10	32,9	83			35,1	86	26,6	62	17,0	35	3/5 (60%)	AQ	
2a	67,0	170	<LOD		69,0	170	44,0	103	39,0	81	2/5 (40%)	AQ-P	entspr. Methode ELISA Fast
2b												AS	
1	40,4	102	1,10	3,7	48,2	118	40,1	93	33,8	70	4/5 (80%)	BF	
12	35,8	91	0		36,9	91	24,7	58	16,5	34	3/5 (60%)	IL	
7	78,0	197	<2,5		110	270	57,0	133	49,0	102	2/5 (40%)	RS-F	
9a	60,0	152	< 2,5		66,5	163	35,9	84	33,8	70	2/5 (40%)	RS-F	
3	35,9	91	8,10	27	40,1	99	25,9	60	21,6	45	3/5 (60%)	VT	
4	53,0	134	20,0	67	56,0	138	39,0	91	40,0	83	5/5 (100%)	VT	

	AB**	50-150 %								
Anzahl in AB	7		1		7		10		5	
Prozent in AB	70		33		70		100		50	

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Mandel, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

AS = AgraStrip (Lateral Flow), RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für Probe 4 (Mandel, geröstet) lagen 100% der Wiederfindungsraten der ELISA-Methoden im Akzeptanzbereich von 50-150%. Für rohe Mandeln (Probe 1) und Marzipan (Probe 3) lagen 70% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse im Akzeptanzbereich. Bei Probe 2 (Mandelmilch) und Probe 5 (Mandel-Schoko-Creme) wurde dagegen eine niedrigere Response beobachtet. Bei Probe 5 lagen 50% der Ergebnisse im Akzeptanzbereich und 50% unterhalb des Akzeptanzbereichs. Bei Probe 2 lag eine Wiederfindungsrate im Akzeptanzbereich und zwei unterhalb des Bereichs.

4.1.5 Quantitativ: PCR-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh		Probe 2 Mandelmilch		Probe 3 Marzipan		Probe 4 Mandel, geröstet		Probe 5 Mandel-Schoko-Creme		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**		
7												ASU	
10b												ASU	
11	73,0	185	<20		46,0	113	<5		30,0	62	2/4 (50%)	ASU	Probe 2 nicht gewertet
5a												GI	
5b												GI-3	
6	< 0,4		< 0,4		0,740	1,8	< 0,4		0,670	1,4	0/5 (0%)	SFA	
10a												SFA	
	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %			
	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	1			
	Prozent in AB	0	Prozent in AB	-	Prozent in AB	50	Prozent in AB	-	Prozent in AB	50			

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

GI-3= GEN-IAL First Allergen Triplex Nut

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Mandel, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Zwei Teilnehmer haben mittels PCR-Methoden quantitative Ergebnisse ermittelt. Ein Teilnehmer hat für Probe 5 (Mandel-Schoko-Creme) und Probe 3 (Marzipan) Wiederfindungsraten im Akzeptanzbereich von 50-150% erhalten. Für rohe Mandeln (Probe 1) lag ein Ergebnis oberhalb des Akzeptanzbereichs. Für Probe 2 (Mandelmilch) und Probe 4 (geröstete Mandeln) wurden keine Ergebnisse oberhalb der Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenze erhalten.

Hinweis: Das Ergebnis von <20 mg/kg für Probe 2 wurde nicht für den WFR-Score gewertet, weil es innerhalb oder außerhalb des Akzeptanzbereichs liegen könnte.

4.1.6 Quantitativ: LC/MS-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Auswertenummer	Probe 1 Mandel, roh		Probe 2 Mandelmilch		Probe 3 Marzipan		Probe 4 Mandel, geröstet		Probe 5 Mandel-Schoko-Creme		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *			
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**		
6	72,0	182	27,1	91	80,8	199	103	239	120	250	0/5 (0%)	LC-MS/MS	
	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %			
	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	0			
	Prozent in AB	0	Prozent in AB	100	Prozent in AB	0	Prozent in AB	0	Prozent in AB	0			

Methoden:

 LC-MS/MS = Flüssigchromatographie-
Massenspektrometrie

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Mandel, s. Seite 6

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für Mandelmilch (Probe 2) wurde von dem Teilnehmer mittels LC-MS/MS eine Wiederfindungsrate im Akzeptanzbereich von 50%-150% erhalten. Die Wiederfindungsraten für rohe Mandeln (Probe 1), Marzipan (Probe 3), geröstete Mandeln (Probe 4) und Mandel-Schoko-Creme (Probe 5) lagen jeweils deutlich oberhalb des Akzeptanzbereichs.

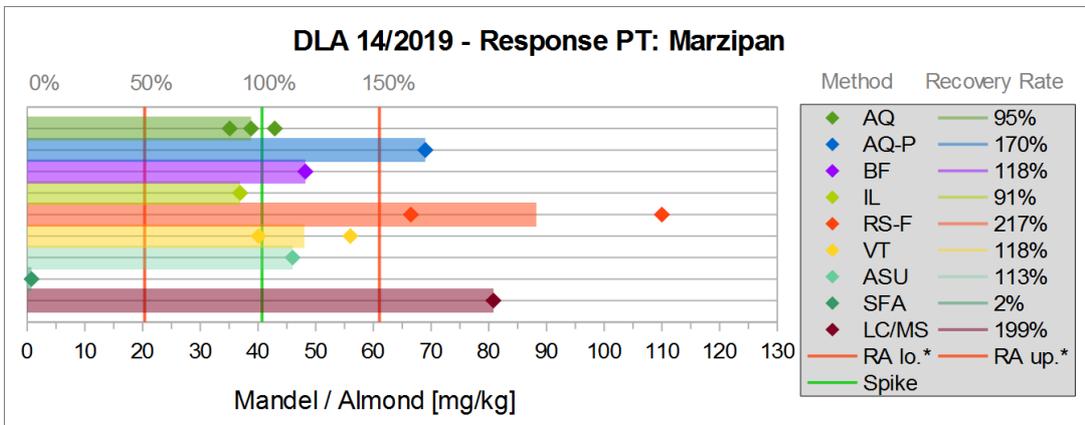
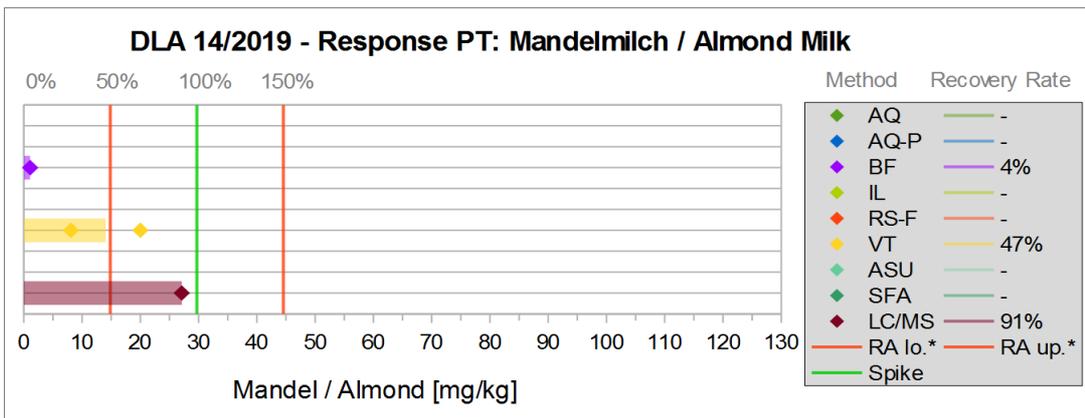
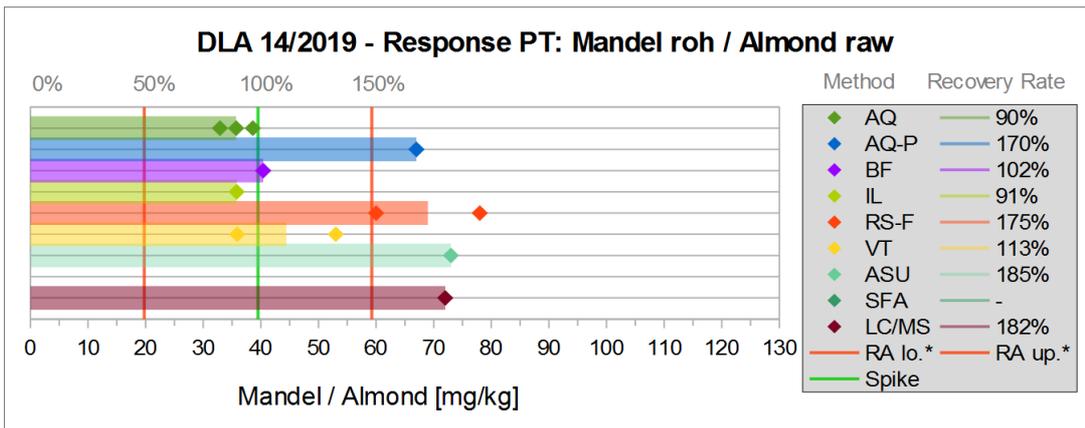


Abb./Fig. 1: Darstellung der Einzelergebnisse (Proben 1-3) getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Mandel in mg/kg, obere Skala Wiederfindungsrate in %, mit * Akzeptanzbereich von 50% - 150% (* range of acceptance: RA lower limit bis RA upper limit)

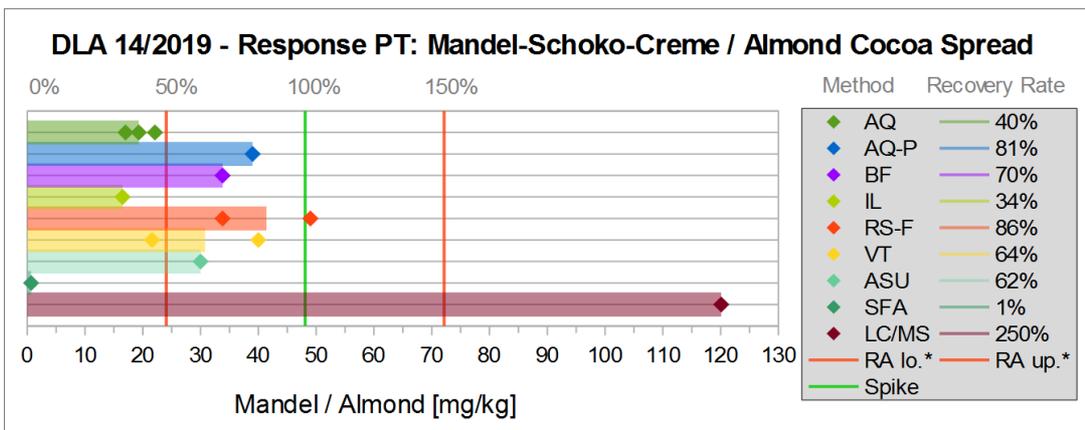
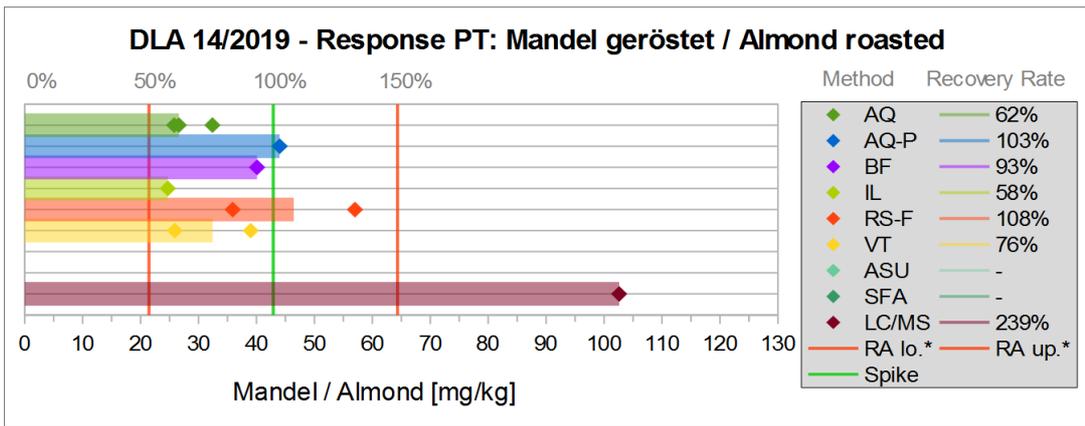


Abb./Fig. 2: Darstellung der Einzelergebnisse (Proben 4 und 5) getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Mandel in mg/kg, obere Skala Wiederfindungsrate in %, mit * Akzeptanzbereich von 50% - 150% (* range of acceptance: RA lower limit bis RA upper limit)

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-Methoden

Meth. Abk.	Auswertn.	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als bevorzugt als Mandel
			qualitativ	mg/kg														
AQ	8	06.05.19	positiv	35,7	negativ	<LOD	positiv	38,8	positiv	25,8	positiv	22,1	negativ	<LOD	0,2	0,4		Mandel
AQ	9b	08.05.	positiv	38,6	negativ	< 0,4	positiv	42,9	positiv	32,4	positiv	19,3	negativ	< 0,4	0,2	0,4		Mandel
AQ	10	02.05.19	positiv	32,9	negativ		positiv	35,1	positiv	26,6	positiv	17	negativ		0,4	0,4	0,16	Mandel
AQ-P	2a		positiv	67	negativ	<LOD	positiv	69	positiv	44	positiv	39	negativ	<LOD	1	1		Mandel
AS	2b		positiv		negativ		positiv		positiv		positiv		negativ		2			Mandel
BF	1	31.05.19	positiv	40,4	positiv	1,1	positiv	48,2	positiv	40,1	positiv	33,8	negativ	0	0,12	1		Mandel
IL	12	02.05.19	positiv	35,8	negativ	0	positiv	36,9	positiv	24,7	positiv	16,5	negativ	0				Mandel
RS-F	7	06.05.19	positiv	78	negativ	<2,5	positiv	110	positiv	57	positiv	49	negativ	<2,5	1,7	2,5		Mandel
RS-F	9a	30.04.	positiv	60	negativ	< 2,5	positiv	66,5	positiv	35,9	positiv	33,8	negativ	< 2,5	0,1	2,5		Mandel
VT	3	06.05.19	positiv	35,9	positiv	8,1	positiv	40,1	positiv	25,9	positiv	21,6	negativ	<2.5	2,5	2,5		Mandel
VT	4	17.05.2019 + 24.05.2019	positiv	53	positiv	20	positiv	56	positiv	39	positiv	40	negativ	<2.5	2,5	2,5	40.5% (20, 8, 20, 20, 20, 20 mg/kg)	Mandel

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertnr.	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Mandel (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnung für prozessierte Mandel	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	%	Umrechnung von X in Y (Faktor oder %)	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	8	AgraQuant ELISA Almond COKAL0748, RomerLabs					ja	
AQ	9b	AgraQuant ELISA Almond COKAL0748, RomerLabs				nach Herstelleranleitung	nein	
AQ	10	AgraQuant ELISA Almond COKAL0748, RomerLabs		21,15		gemäß Handbuch	ja	
AQ-P	2a	ELISAFast® Mandel					ja	Probe 2 nur knapp <LOD
AS	2b	AgraStrip® Almond					ja	Probe 2 schwach positiv, aber <NWG
BF	1	MonoTrace Almond ELISA kit, BioFront Technologies	Monoclonaler Antikörper-basiertes Kit			1:20 Extraktionsverhältnis, 10 Minuten bei 60°C	nein	
IL	12	Immunolab Almond ELISA						
RS-F	7	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm	erkennt Mandelproteine	ca. 25		lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	9a	Ridascreen® FAST Almond R6901, R-Biopharm				nach Herstelleranleitung, mit Magermilchpulver	ja	
VT	3	Veratox Almond, Neogen				PBS/15 Minuten/60°C 4 Parameter	ja	
VT	4	Veratox Almond, Neogen	Mandelprotein (vom Anbieter nicht spezifiziert)	Es ist weder in der Anleitung noch im Validierungsreport von Veratox for Almond Allergen (Neogen item 8440) angegeben.	nicht deklariert	Nach Kit-Anleitung	nein	Anfänglich für Proben 1, 2, 3, 4, 5 erhaltene Ergebnisse oberhalb der Obergrenze des Kits. Zusätzliche Verdünnungen verwendet um Ergebnisse zu erhalten (1-1/20; 2-1/5; 3-1/10; 4-1/10; 5-1/10)

5.1.2 PCR-Methoden

Meth. Abk.	Auswert-tenr.	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg														
			qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Mandel										
ASU	7	08.05.19	positiv		positiv		positiv		negativ		positiv		negativ		40			Mandel-DNA
ASU	10b	29.04.19	positiv		positiv		positiv		negativ		positiv		negativ					Mandel-DNA
ASU	11		positiv	73	positiv	<20	positiv	46	negativ	<5	positiv	30	negativ	<5	5	20	50	Mandel
GI	5a	24.05.19	positiv		negativ		5			Bitte auswählen!								
GI-3	5b	28.05.19	positiv		negativ		5			Bitte auswählen!								
SFA	6a		negativ	< 0,4	negativ	< 0,4	positiv	0,74	negativ	< 0,4	positiv	0,67	negativ	< 0,4	0,4	1	40	Mandel
SFA	10a	30.04.19	positiv		negativ					Mandel-DNA								

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertnr.	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Mandel (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnung für prozessierte Mandel	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA			z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	7	ASU §64 Methode/method				§64 LFGB L 18.00-20:2014-08	ja	Probe 2: Spuren an der NWG
ASU	10b	ASU §64 Methode/method				Extraktion mit dem Macherey & Nagel NucleoSpin Food Kit	ja	
ASU	11	ASU §64 Methode/method	PRU AV1-Gen; 129bp			CTAB-Präzipitationsmethode, s. z.B. ASU L 18.00-22	ja	Kalibrierung/Quantifizierung mittels Matrix-Standards, dotiertes Material: Mandel, entfettet.
GI	5a	First-Almond (GEN-IAL)				First-DNA all tissue Kit	ja	
GI-3	5b	First-Allergen Triplex Nut II (GEN-IAL)				First-DNA all tissue Kit	ja	
SFA	6a	Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen				lt. Manual Prep Advanced P1	ja	Pr. 1 schwach positiv, ct>35, lt. Manual als negativ gewertet
SFA	10a	Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen				Extraktion mit dem Macherey & Nagel NucleoSpin Food Kit		Methode noch nicht verifiziert.

5.1.3 LC/MS-Methoden

Meth. Abk.	Auswertnr.	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Mandel										
LC-MS/MS	6b	11./12. Jun 19	positiv	72	positiv	27,1	positiv	80,8	positiv	102,6	positiv	120,1	negativ		S/N > 3	20	0,4	Mandel

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertnr.	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Mandel (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnung für prozessierte Mandel	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter / Literatur						
LC-MS/MS	6b	LC-MS/MS	spezifische Peptide			Proteinextraktion mit anschließendem enzymatischen Verdau	ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 14-2019 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	34,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,05	79	31,3
2	5,04	70	27,8
3	5,02	72	28,7
4	5,03	71	28,2
5	5,03	84	33,4
6	5,01	83	33,1
7	5,03	71	28,2
8	5,00	81	32,4

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	76,4	Partikel
Standardabweichung	6,04	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,35	
Wahrscheinlichkeit	85	%
Wiederfindungsrate	88	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	30,4	mg/kg
Standardabweichung	2,40	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,9	%
Horwitz Standardabweichung	9,6	%
HorRat-Wert	0,8	
Wiederfindungsrate	88	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA 14-2019 Probe 2

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	35,3	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,02	112	44,6
2	5,03	108	42,9
3	4,99	103	41,3
4	5,03	119	47,3
5	5,03	101	40,2
6	5,06	117	46,2
7	5,00	119	47,6
8	5,01	104	41,5

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	110,4	Partikel
Standardabweichung	7,28	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,36	
Wahrscheinlichkeit	85	%
Wiederfindungsrate	125	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	44,0	mg/kg
Standardabweichung	2,90	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,6	%
Horwitz Standardabweichung	9,1	%
HorRat-Wert	0,7	
Wiederfindungsrate	125	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 14-2019 Probe 3**

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

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,06	78	30,8
2	4,97	80	32,2
3	5,02	76	30,3
4	5,06	78	30,8
5	5,02	85	33,9
6	5,03	89	35,4
7	5,00	89	35,6
8	5,00	75	30,0

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	81,3	Partikel
Standardabweichung	5,73	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	2,83	
Wahrscheinlichkeit	90	%
Wiederfindungsrate	116	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	32,4	mg/kg
Standardabweichung	2,28	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,06	%
Horwitz Standardabweichung	9,48	%
HorRat-Wert	0,74	
Wiederfindungsrate	116	%

Microtracer Homogenitätstest**DLA 14-2019 Probe 4**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	27,8	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,02	104	41,4
2	5,01	104	41,5
3	5,00	108	43,2
4	5,09	90	35,4
5	5,05	112	44,4
6	4,99	85	34,1
7	5,05	108	42,8
8	5,03	107	42,5

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	102,3	Partikel
Standardabweichung	9,55	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	6,25	
Wahrscheinlichkeit	51	%
Wiederfindungsrate	146	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	40,7	mg/kg
Standardabweichung	3,80	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,34	%
Horwitz Standardabweichung	9,16	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	146	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA 14-2019 Probe 5

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	21,2	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,02	54	21,5
2	4,97	50	20,1
3	5,05	47	18,6
4	5,01	52	20,8
5	5,00	51	20,4
6	5,09	56	22,0
7	5,05	51	20,2
8	5,03	50	19,9

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	51,4	Partikel
Standardabweichung	2,60	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	0,92	
Wahrscheinlichkeit	100	%
Wiederfindungsrate	96	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	20,4	mg/kg
Standardabweichung	1,04	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,07	%
Horwitz Standardabweichung	10,2	%
HorRat-Wert	0,50	
Wiederfindungsrate	96	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA 14-2019
EP-Name	Response PT Mandel: Prozessierte Proben Mandeln (ungeröstet), Mandeln (geröstet), Marzipan, Mandelbrotaufstrich und Mandelmilch in Kartoffelpulver-Matrix (Gehalte: 25 - 150 mg/kg)
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben 1-6: Zutaten: Kartoffelpulver (ca. 75%), Maltodextrin (ca. 25%) sowie weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (nur in Proben 1-5)
Probenzahl und Probenmenge	5 unterschiedliche Proben je 20 g + 1 „Null-Probe“ 20 g
Lagerungsinformation	Proben 1-6: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Mandel / Mandelprotein / DNA aus Mandeln (ungeröstet), Mandeln (geröstet), Marzipan, Mandelbrotaufstrich und Mandelmilch Proben 1-5: ca. 25 - 150 mg/kg (als Gesamt-Mandel)
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Am besten wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe 1 - 6 je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen, bei Mehrfachbestimmungen der Mittelwert.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Abgabetermin	Spätestens 31. Mai 2019
Auswertebericht	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Dr. Matthias Besler-Scharf

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		USA
		Deutschland
		Deutschland
		SPANIEN
		Deutschland
		SCHOTTLAND
		ÖSTERREICH

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

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

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. EN ISO/IEC 17034:2016; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern / General requirements for the competence of reference material producers
19. ISO Guide 34:2000; General requirements for the competence of reference material producers
20. DAkkS 71 SD 1/4 016; Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit nach Forderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 (2011) [Estimation and indication of the measurement uncertainty]
21. 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
22. 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
23. 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
 24. 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
 25. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
 26. 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)
 27. 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)
 28. 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)
 29. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 30. 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
 31. 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
 32. 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]
 33. 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]
 34. 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]
 35. 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]
 36. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (Bertholletia exceisa) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (Bertholletia exceisa) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 37. 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 14/2019 - Response PT Mandel

Alle 12 Teilnehmer haben Ergebnisse eingereicht. Es wurden 6 LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und die quantitative Bestimmung von Mandel (ungeröstet und geröstet), Marzipan, Mandelmilch und Mandel-Schoko-Creme in einer Trägermatrix sowie eine „Null“-Probe zur Verfügung gestellt. Die Teilnehmer-Ergebnisse wurden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden. Die quantitativen Ergebnisse wurden mit einem Wiederfindungs-Score (*WFR-Score*) bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen. Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA-, PCR- und LC/MS-Methoden. Details sind dem Auswertebereicht zu entnehmen. 3 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Österreich, Schottland, Spanien) und ein Teilnehmer in den USA.