



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL04 (2020)

Allergene IV:

Sellerie, Senf und Sesam

in Tomatencreme-Suppe (Instantpulver)

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 ptAL04 (2020)
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (19. Oktober 2020)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 19. Oktober 2020</p>
<i>Unteraufträge Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination</p>
<i>Vertraulichkeit Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S^*/opt	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen).....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen).....	21
4.2 Vergleichsuntersuchung Senf.....	26
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba).....	26
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba).....	36
4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam.....	41
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam.....	41
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam.....	53
4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	58
5. Dokumentation.....	60
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	60
5.1.1 ELISA: Senf.....	60
5.1.2 ELISA: Sesam.....	62
5.1.3 PCR: Sellerie.....	64
5.1.4 PCR: Senf.....	66
5.1.5 PCR: Sesam.....	68
5.2 Homogenität.....	69
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	69
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	70
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	71
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	72

1. Einleitung

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

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

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

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um ein handelsübliches Instant-Suppenpulver (Tomatencremesuppe) mit Zusatz von Kartoffelmehl. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Sieben (mesh 2,0 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Sellerie, Senf und Sesam enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3 weiteren Schritten zugegeben und jeweils homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

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

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

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Tomatencreme-Suppenpulver Zutaten: Tomatenpulver (37%), Stärke, Zucker, Salz, Zwiebelpulver, Reismehl, Hefeex- trakt, Maiskeimöl, Maltodextrin, Gewür- ze (Knoblauch, Pfeffer), Rote-Be- te-Saftpulver/Randensaftpulver, Kräuter (Lorbeerblätter, Oregano), Aromen Nährwertangaben pro 100 g: Fett <5,5 g, Kohlenhydrate 68 g, Eiweiß 5,5 g, Salz 9,9 g	66,5 g/100 g	65,6 g/100g	-
Kartoffelmehl Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 0 g	33,5 g/100 g	33,0 g/100 g	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	1,19 g/100 g	99,8 g/100 g
<i>Selleriesamen:</i> - als Sellerie* - davon 20,0% Gesamtprotein**	-	36,2 mg/kg 7,24 mg/kg	31,2 mg/kg 6,24 mg/kg
<i>Senf, gelb:</i> - als Senf* - davon 30,6% Gesamtprotein**	-	24,5 mg/kg 7,48 mg/kg	21,1 mg/kg 6,45 mg/kg
<i>Sesam, weiß:</i> - als Sesam* - davon 24,5% Gesamtprotein**	-	46,4 mg/kg 11,4 mg/kg	40,1 mg/kg 9,81 mg/kg
<i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	-	<0,2 g/100 g	<0,2 g/100 g

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

** Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit
F=6,25 für Sellerie-, Senf-, und Sesamprotein)

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe B und der Dotierungsniveauprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 89% bzw. 98% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,9 bzw. 0,7 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

Durchführung der Homogenitätstests

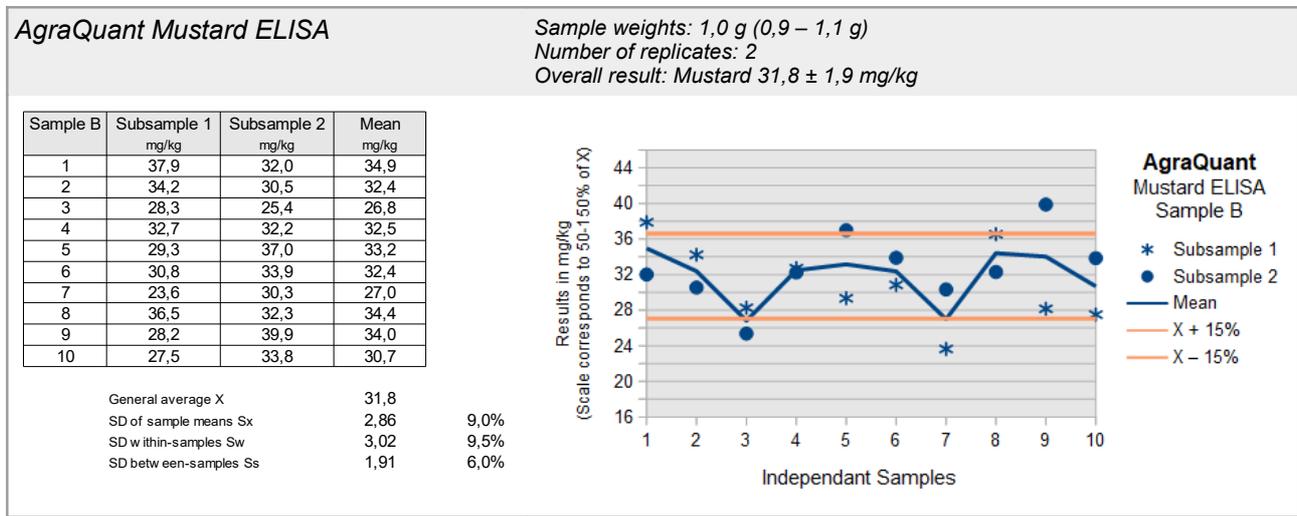
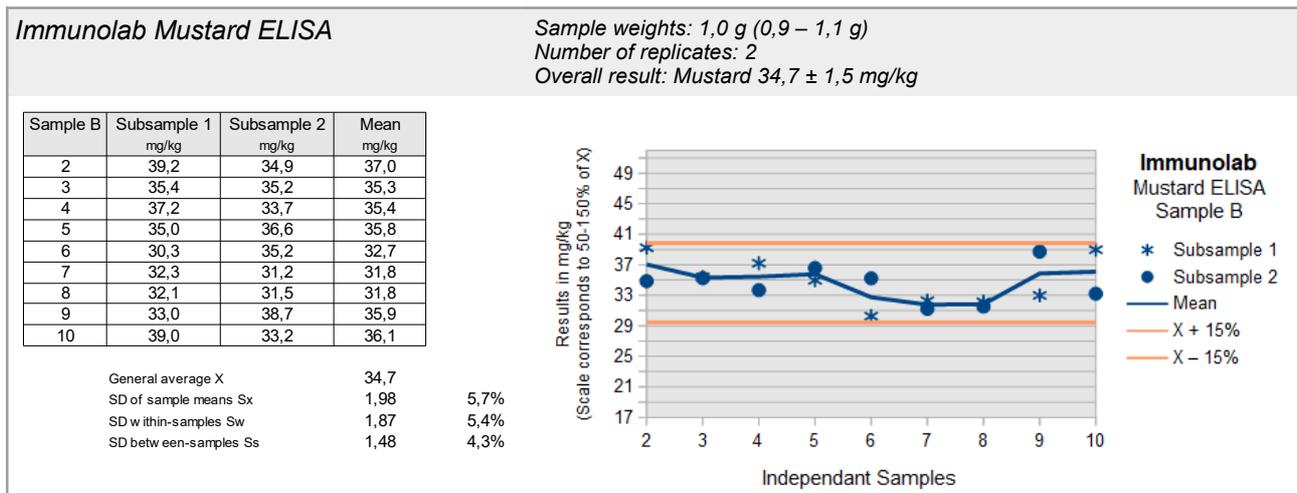
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur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

Bewertung der Homogenität

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

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

ELISA-Tests: Homogenität Senf / Homogeneity Mustard



ELISA-Tests: Homogenität Sesam / Homogeneity Sesame

Immunolab Sesame ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame 47,3 ± 2,4 mg/kg

Sample B	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	48,2	50,0	49,1
2	44,3	49,9	47,1
3	40,2	45,9	43,0
4	48,8	45,9	47,4
5	49,6	53,5	51,6
6	50,0	54,0	52,0
7	46,5	41,7	44,1
8	37,9	49,2	43,5
9	43,9	49,8	46,8
10	50,4	46,6	48,5

General average X: 47,3
 SD of sample means Sx: 3,12 (6,6%)
 SD within-samples Sw: 2,77 (5,9%)
 SD between-samples Ss: 2,43 (5,1%)

Morinaga Sesame ELISA Kit II

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame protein 10,8 ± 0,24 mg/kg

Sample B	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	11,2	10,0	10,6
2	10,9	10,9	10,9
3	13,2	10,3	11,8
4	10,8	9,7	10,3
5	10,7	11,1	10,9
6	10,5	9,4	9,9
7	11,6	9,8	10,7
8	9,8	10,8	10,3
9	11,5	11,0	11,3
10	10,5	11,5	11,0

General average X: 10,8
 SD of sample means Sx: 0,530 (4,9%)
 SD within-samples Sw: 0,667 (6,2%)
 SD between-samples Ss: 0,243 (2,3%)

AgraQuant Sesame ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame 43,6 ± 1,5 mg/kg

Sample B	Subsample 1 mg/kg	Subsample 2 mg/kg	Mean mg/kg
1	40,1	41,9	41,0
2	41,9	45,7	43,8
3	45,6	43,0	44,3
4	43,3	41,3	42,3
5	40,6	46,3	43,5
6	41,5	51,9	46,7
7	46,7	43,1	44,9
8	46,1	40,8	43,5
9	46,6	38,8	42,7
10	40,8	45,6	43,2

General average X: 43,6
 SD of sample means Sx: 1,54 (3,5%)
 SD within-samples Sw: 2,71 (6,2%)
 SD between-samples Ss: < 1,54 (< 3,5%)

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. $0,43$ ($18,3^\circ\text{C}$). Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 24. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 21. August 2020 (verlängert).

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

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

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Alle 39 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 [25, 26, 27, 28]. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse, wenn möglich in der Auswertung verschiedenen Bezugswerten gegenübergestellt.

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

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

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

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

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

3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und 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 σ_{pt} (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt werden.

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

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung σ_R abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung σ_R kann als relative Zielstandardabweichung σ_{pt} in % des zugewiesenen Wertes verwendet werden und nach untenstehenden Gleichungen berechnet werden [3]. Dabei wird für die Konzentration c der zugewiesene Wert X_{pt} eingesetzt.

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

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

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

3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

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

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

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 - 33% für die ELISA-Methoden und 15 - 43% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

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

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD_r	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Sellerie- samen	Brühwurst (100°C, 60min)	98,1	98,1 %	-	12,6%	20,7%	18,7%	rt-PCR ASU 08.00-65
		45,5	114 %	-	27,9%	34,7%	28,5%	
Sellerie- samen	Wurst, autoklaviert	10,5	10,5 %	-	25,8%	39,4%	34,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
Senf, braun / schwarz	Wurst, auto- klaviert	146,7	147 %	-	12,3%	22,0%	20,2%	rt-PCR ASU 08.00-64
		50,0	125 %	-	17,2%	31,6%	29,2%	
		15,8	158 %	-	15,4%	27,1%	24,8%	
Senf, braun / schwarz	Wurst, auto- klaviert	168,3	168 %	-	11,4%	31,6%	29,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
		52,9	132 %	-	10,0%	23,1%	21,9%	
		17,6	176 %	-	23,1%	46,3%	43,3%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60min)	79,9	80 %	-	13,6%	23,6%	21,6%	rt-PCR ASU 08.00-59
		37,0	93 %	-	15,7%	29,2%	27,0%	
		18,0	90 %	-	14,4%	30,6%	28,9%	
		8,0	80 %	-	15,4%	26,1%	23,7%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60 min)	103,3	103 %	-	11,8%	17,1%	14,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
		45,9	115 %	-	14,7%	21,8%	19,2%	
Senf, weiß	Wurst, autoklaviert	11,7	11,7 %	-	24,1%	34,3%	29,8%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sesam	Reiskekse	94,6	95 %	-	22,5%	27,5%	22,4%	rt-PCR ASU 18.00-19
		15,7	79 %	-	26,0%	39,5%	35,0%	
		9,8	98 %	-	20,9%	33,5%	30,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	96,9	79 %	-	21,8%	33,0%	29,2%	rt-PCR ASU 18.00-19
		59,8	60 %	-	22,2%	43,2%	40,2%	
Sesam	Reiskekse	88,9	89 %	-	18,2%	30,5%	27,7%	rt-PCR <small>multiplex</small> ASU 18.00-22
		17,8	89 %	-	34,2%	37,8%	29,1%	
		9,8	98 %	-	26,2%	37,0%	32,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	115	93 %	-	16,7%	41,1%	39,4%	rt-PCR <small>multiplex</small> ASU 18.00-22
		58,5	59 %	-	30,8%	44,4%	38,7%	

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	Wiederholstandardabweichung	Vergleichsstandardabweichung
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 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandardabweichung	Vergleichsstandardabweichung
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 für die relative Zielstandardabweichung σ_{pt} einen Wert von 25% fest.

Diese Zielstandardabweichung wurde zur statistischen Bewertung der Ergebnisse mittels z-Score bzw. falls erforderlich mittels z'-Score herangezogen und auf alle unter 3.1 angegebenen Bezugswerte angewandt.

3.5 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung (σ_{pt}) das Ergebnis (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert (x_{pt}) abweicht [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z_i = \frac{(x_i - x_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

Die Anforderungen an die Analytik gelten im Allgemeinen als erfüllt, wenn

$$-2 \leq z \leq 2 .$$

Zur Bewertung werden nachstehende z-Scores mit einer Zielstandardabweichung von 25% in der Auswertung angegeben:

- i) **z-Score** - **z_{ALL}** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **z_{METHOD i}** (bezogen auf Einzelmethoden)

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< - 3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichmaßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

DLA stellt in den z-Score-Abbildungen die Grenzen für die Warn- und Eingriffssignale als gelbe bzw. rote Linien dar. Die jeweiligen Werte haben gemäß ISO 13528 nur Gültigkeit sofern ≥ 10 Ergebnisse vorliegen [3].

3.6 z'-Score

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss (s. 3.8). Der z'-Score drückt das Verhältnis der Abweichung des Ergebnisses (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert zur Wurzel aus der Quadratsumme von Zielstandardabweichung (σ_{pt}) und Standardunsicherheit ($U_{(x_{pt})}$) aus [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z'_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_{(x_{pt})}^2}}$$

Sofern eine Bewertung der Ergebnisse mittels z'-Score erfolgt, haben wir im Folgenden den Ausdruck im Nenner als Zielstandardabweichung σ_{pt}' definiert.

Die Anforderungen an die Analytik gelten im Allgemeinen als erfüllt, wenn

$$-2 \leq z' \leq 2 .$$

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S*/ σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

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

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

Die Berechnung der zugehörigen z-Scores erfolgte gemäß 3.5 mit der Zielstandardabweichung von 25% (s. 3.4.3).

4. Ergebnisse

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

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

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

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

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

Die ELISA-Ergebnisse, die als **Senf- und Sesamprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe auf das **Gesamtlebensmittel** (Senfsamen, Sesamsamen) umgerechnet worden.

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

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

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

Auswertenummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	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 ^o :		
Zielstandardabweichung σ_{pt} bzw. σ_{pt}'		
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}'$) ^o		
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$) bzw. ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}'$) ^o		
Quotient S^*/σ_{pt} bzw. S^*/σ_{pt}'		
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Anmerkung:

Es wurden keine ELISA-Bestimmungen von den Teilnehmern durchgeführt.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
1	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
11	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
23	positiv		negativ		0/0 (0%)	ASU	Proben verwechselt?
28	negativ		positiv		2/2 (100%)	CEN	
32	negativ		positiv		2/2 (100%)	CEN	
8	negativ		positiv		2/2 (100%)	IM	
4	negativ		negativ		1/2 (50%)	MS	keine Positivprobe identifiziert
3	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
5	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
22	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
34	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
21	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
38	negativ	<1	positiv	41,5	2/2 (100%)	SFA-ID	
10	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
18	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
24	negativ	<1	positiv	>1	2/2 (100%)	div	
33a	negativ		positiv	3,00	2/2 (100%)	div	
33b	negativ		positiv	7,00	2/2 (100%)	div	
36	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
37	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	1	20
Anzahl negativ	21	2
Prozent positiv	5	91
Prozent negativ	95	9
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

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

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

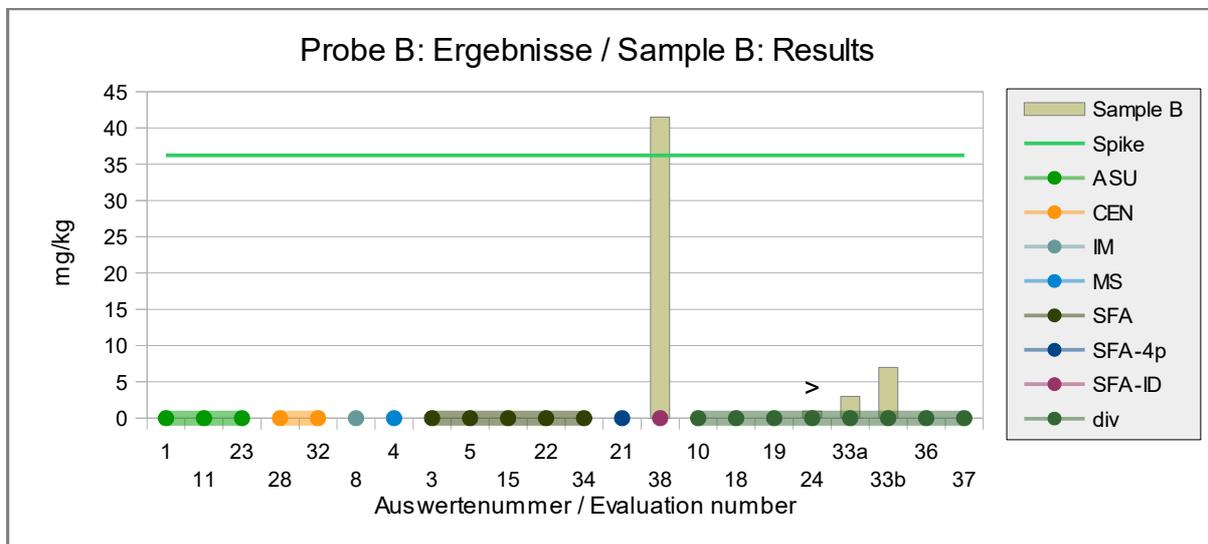


Abb./Fig. 1: PCR-Ergebnisse Sellerie
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Sellerie pos/neg	Sellerie [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	Methode	Hinweis
1	positiv			ASU	
11	positiv			ASU	
23	positiv			ASU	
28	positiv			CEN	
32	positiv			CEN	
8	positiv			IM	
4	positiv	30		MS	
3	positiv			SFA	
5	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
22	positiv			SFA	
34	positiv			SFA	
21	positiv			SFA-4p	
38	positiv	46,8		SFA-ID	
10	positiv			div	
18	positiv			div	
19	positiv			div	
24	positiv	>1		div	
33a	positiv	2		div	
33b	positiv	5		div	
36	positiv			div	
37	positiv			div	

Anzahl positiv	22
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = CEN Methoden/ methods

IM = Imegen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

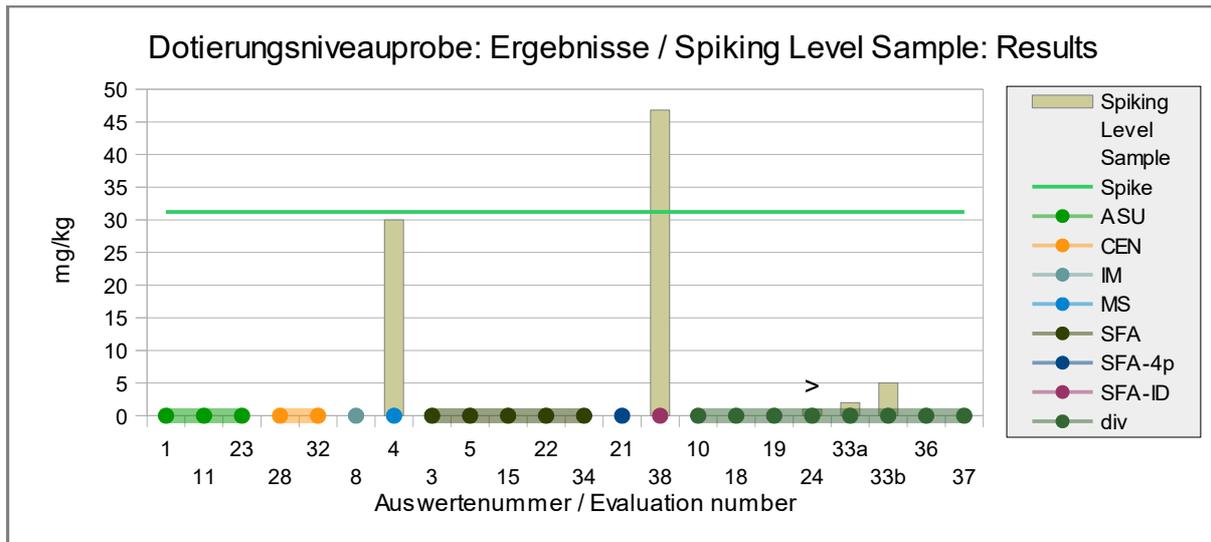


Abb./Fig. 2: PCR-Ergebnisse Sellerie
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
1							ASU	
11							ASU	
23							ASU	
28							CEN	
32							CEN	
8							IM	
4	30	96	-0,15				MS	
3							SFA	
5							SFA	
15							SFA	
22							SFA	
34							SFA	
21							SFA-4p	
38	46,8	150	2,0	41,5	115	0,58	SFA-ID	
10							div	
18							div	
19							div	
24	>1			>1			div	
33a	2	6	-3,7	3,00	8	-3,7	div	
33b	5	16	-3,4	7,00	19	-3,2	div	
36							div	
37							div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	2	Anzahl im AB	1
Prozent im AB	50	Prozent im AB	33

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = CEN Methoden/ methods

IM = Imegen

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

2 von 4 Teilnehmern haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lag eine von 3 Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.2 Vergleichsuntersuchung Senf

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf (*Sinapis alba*)

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		
12	negativ	<LOD	positiv	45,1	2/2 (100%)	AQ	
37	negativ	<2	positiv	25,8	2/2 (100%)	AQ	
26	negativ	<2	positiv	28,7	2/2 (100%)	BC	
39	negativ	0	positiv	22,4	2/2 (100%)	BF	
23	positiv	38,9	negativ	<2,00	0/0 (0%)	NL-E	Proben verwechselt?
15	negativ	< 2	positiv	28,3	2/2 (100%)	OS	
1	negativ		positiv	105	2/2 (100%)	RS-F	
2	negativ	<0,5	positiv	>13,5	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ	<0,5	positiv	36,3	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<2,5	positiv	>13,5	2/2 (100%)	RS-F	
18	negativ		positiv	37,0	2/2 (100%)	RS-F	
22	negativ	<0,5	positiv	>13,5	2/2 (100%)	RS-F	
24	negativ	<0,5	positiv	21,3	2/2 (100%)	RS-F	
25	negativ	<0,5	positiv	36,7	2/2 (100%)	RS-F	
36	negativ	<	positiv	8,90	2/2 (100%)	RS-F	
38	negativ	<0,5	positiv	22,0	2/2 (100%)	RS-F	
11a	negativ	<2	positiv	15,0	2/2 (100%)	SP	
14	negativ	0	positiv	33,0	2/2 (100%)	SP	
6	negativ	<1	positiv	36,0	2/2 (100%)	VT	
7	negativ	<2,5	positiv	35,0	2/2 (100%)	VT	
11b	negativ	<2,5	positiv	47,0	2/2 (100%)	VT	
16	negativ		positiv	36,9	2/2 (100%)	VT	
17	negativ	<1,0	positiv	35,7	2/2 (100%)	VT	
27	negativ	ND	positiv	27,3	2/2 (100%)	VT	
30	negativ	<2,5	positiv	36,0	2/2 (100%)	VT	
32	negativ		positiv	41,0	2/2 (100%)	VT	
34	negativ	<8,2	positiv	215	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 19

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	1		26	
Anzahl negativ	26		1	
Prozent positiv	4		96	
Prozent negativ	96		4	
Konsenswert	negativ		positiv	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 NL-E = nutrLinia®E Allergen-ELISA
 OS = Orsell
 RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

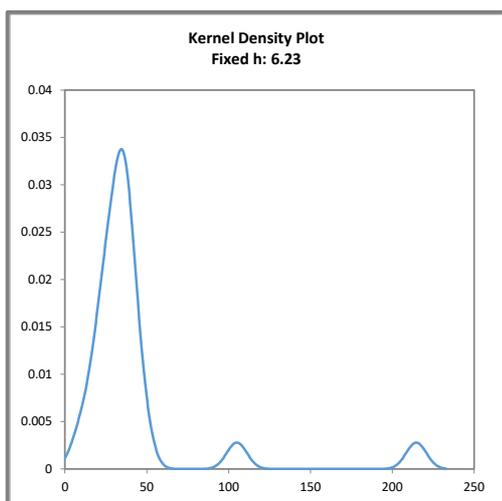
Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Senf [mg/kg]	z-Score X _{pt} ALL	z-Score X _{pt} RS-F	z-Score X _{pt} VT	Methode	Hinweis
12	45,1	1,4			AQ	
37	25,8	-0,89			AQ	
26	28,7	-0,55			BC	
39	22,4	-1,3			BF	
23	<2,00				NL-E	
15	28,3	-0,60			OS	
1	105	8,6			RS-F	Ausreißer bei X _{pt} RS-F ausgeschlossen
2	>13,5				RS-F	
10	36,3	0,37	1,4		RS-F	
13	>13,5				RS-F	
18	37,0	0,45	1,5		RS-F	
22	>13,5				RS-F	
24	21,3	-1,4	-0,85		RS-F	
25	36,7	0,42	1,4		RS-F	
36	8,90	-2,9	-2,7		RS-F	
38	22,0	-1,4	-0,74		RS-F	
11a	15,0	-2,2			SP	
14	33,0	-0,03			SP	
6	36,0	0,33		-0,09	VT	
7	35,0	0,21		-0,19	VT	
11b	47,0	1,7		1,1	VT	
16	36,9	0,44		0,01	VT	
17	35,7	0,30		-0,12	VT	
27	27,3	-0,71		-1,0	VT	
30	36,0	0,33		-0,08	VT	
32	41,0	0,93		0,46	VT	
34	215	22			VT	Ergebnis umgerechnet ° Ausreißer bei X _{pt} VT ausgeschlossen

° Umrechnung S. 19



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
- OS = Orsell
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 3:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit zwei Nebenpeaks bei 105 mg/kg und 215 mg/kg, die auf zwei Ausreißer zurückgehen (Methoden RS-F und VT).

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]	Methode VT [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$	$X_{pt_METHOD\ VT}$
Anzahl der Messergebnisse	23	6°	8°
Anzahl der Ausreißer	–	1	1
Mittelwert	42,4	27,0	36,9
Median	35,7	29,2	36,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	33,2	27,0	36,8
Robuste Standardabweichung (S^*)	11,0	13,1	4,89
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	8,31	6,76	9,19
Untere Grenze des Zielbereichs	16,6	13,5	18,4
Obere Grenze des Zielbereichs	49,9	40,6	55,1
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	<i>1,3</i>	<i>1,9</i>	<i>0,53</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>2,87</i>	<i>6,68</i>	<i>2,16</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>19</i>	<i>5</i>	<i>8</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>83</i>	<i>83</i>	<i>100</i>

° ohne Ergebnisse Nr. 1 bzw. 34 (vorab ausgeschlossen)

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung (zwei hohe Einzelwerte).

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von den Methoden RS-F und VT zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 136%, 110% bzw. 150% vom Zusatzniveau von Senf zu Probe B, innerhalb bzw. im oberen Bereich der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.35 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Senf").

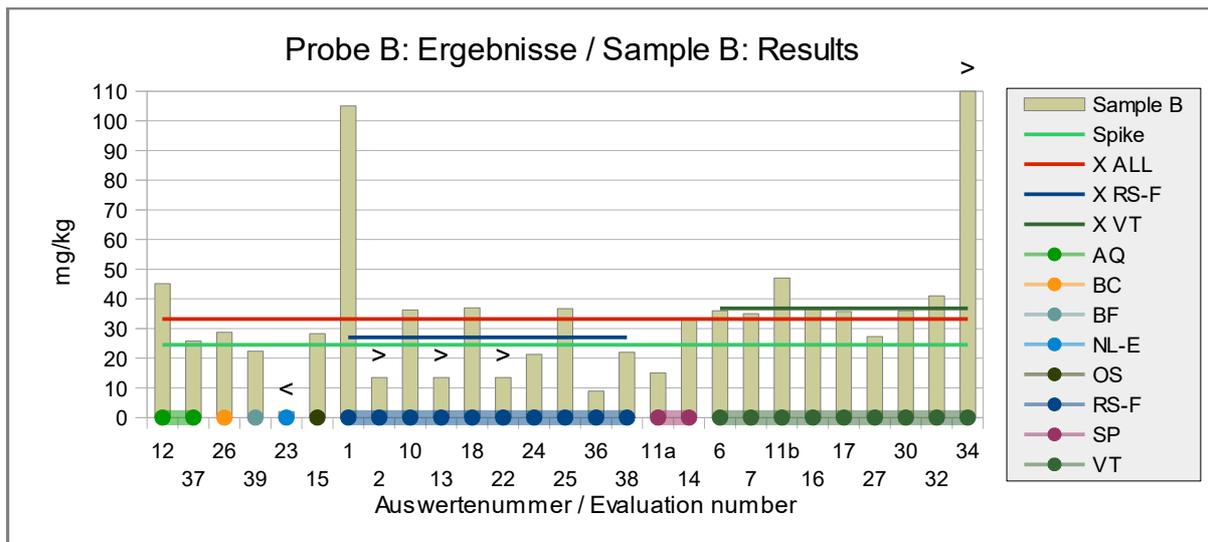


Abb./Fig. 4: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

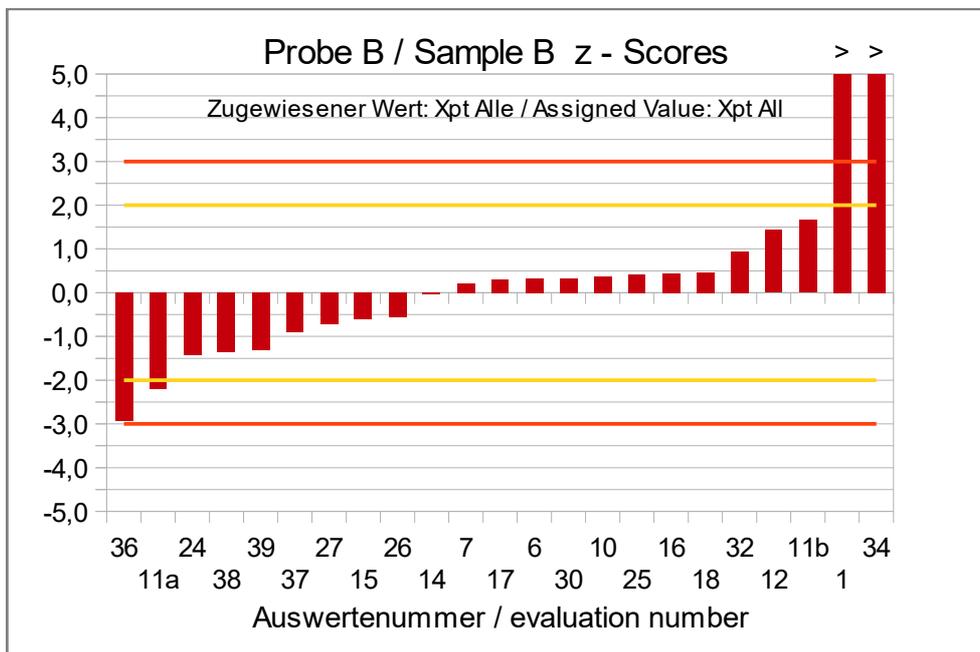


Abb./Fig. 5:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

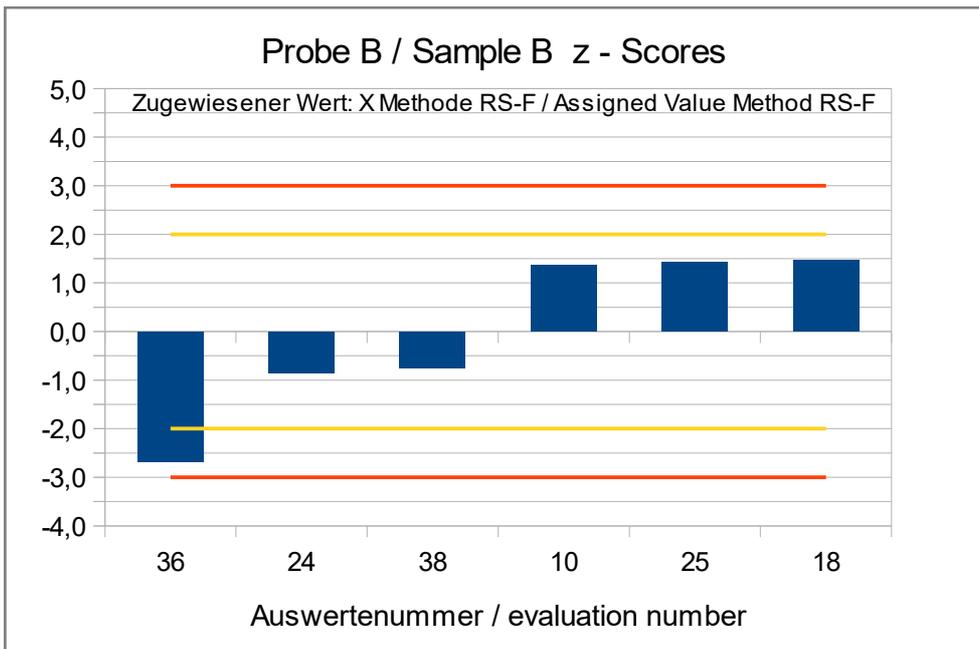


Abb./Fig. 6:

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

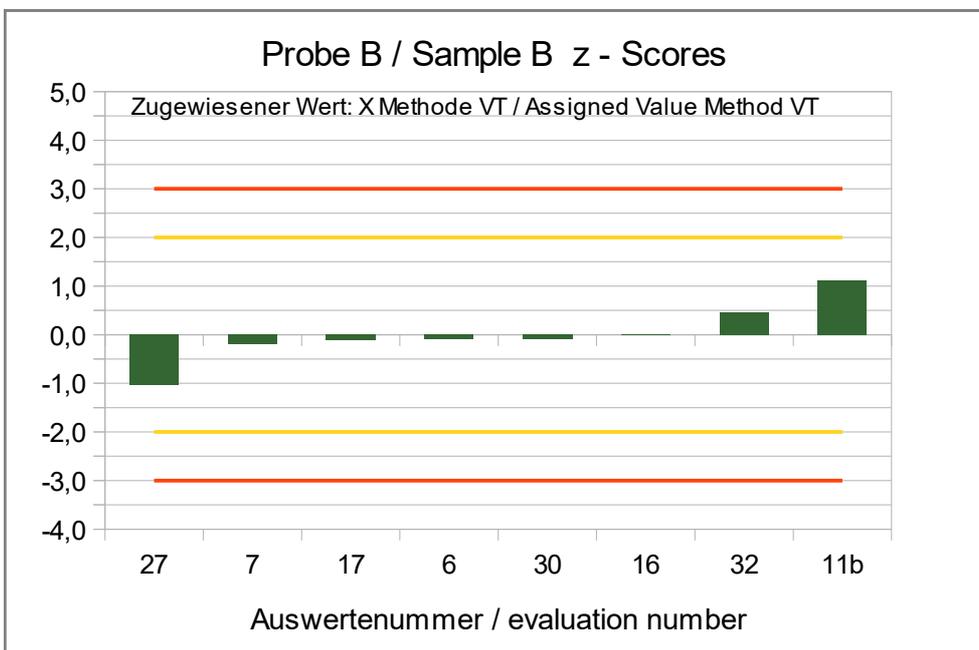


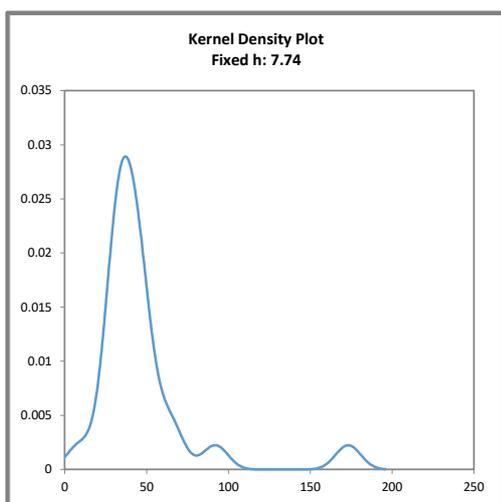
Abb./Fig. 7:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Senf [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z'-Score Xpt _{RS-F}	z-Score Xpt _{VT}	Methode	Hinweis
12	44,5	0,31			AQ	
37	62,0	2,0			AQ	
26	31,6	-0,94			BC	
39	47,8	0,63			BF	
23	38,7	-0,25			NL-E	
15	30,6	-1,0			OS	
1	92,0	4,9			RS-F	Ausreißer bei Xpt _{RS-F} ausgeschlossen
2	>13,5				RS-F	
10	66,4	2,4	2,1		RS-F	
13	>13,5				RS-F	
18	29,0	-1,2	-0,51		RS-F	
22					RS-F	
24	36,7	-0,44	0,04		RS-F	
25	44,2	0,28	0,56		RS-F	
36	8,90	-3,1	-1,9		RS-F	
38	32,2	-0,88	-0,29		RS-F	
11a	48,0	0,65			SP	
14	44,0	0,27			SP	
6	48,7	0,72		1,4	VT	
7	32,0	-0,90		-0,48	VT	
11b	42,0	0,07		0,62	VT	
16	35,7	-0,54		-0,08	VT	
17					VT	
27	27,6	-1,3		-0,97	VT	
30	35,0	-0,61		-0,15	VT	
32	35,0	-0,61		-0,15	VT	
34	173	13			VT	Ergebnis umgerechnet ° Ausreißer bei Xpt _{VT} ausgeschlossen

° Umrechnung S. 19



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
- OS = Orsell
- RS-F = Ridascree® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 8:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit zwei Nebenpeaks bei 92 mg/kg und 173 mg/kg, die auf Ausreißer außerhalb des Zielbereiches zurückgehen (Methode RS-F, VT).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Senf**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]	Methode VT [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ RS-F}$	$X_{pt_METHOD\ VT}$
Anzahl der Messergebnisse	23	6°	7°
Anzahl der Ausreißer	-	1	1
Mittelwert	47,2	36,2	36,6
Median	38,7	34,5	35,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	41,3	36,2	36,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,2	21,5	7,41
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt} bzw. σ_{pt}'	10,3	14,2	9,10
Untere Grenze des Zielbereichs	20,6	7,82	18,2
Obere Grenze des Zielbereichs	61,9	64,7	54,6
Quotient S^*/σ_{pt} bzw. S^*/σ_{pt}'	1,3	1,5	0,81
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	3,44	10,9	3,50
Ergebnisse im Zielbereich	19	5	7
Prozent im Zielbereich	83	83	100

° ohne Ergebnisse Nr. 1 bzw. 34 (vorab ausgeschlossen)

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse (zwei hohe Einzelwerte).

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und der Methode VT zeigten eine normale bzw. geringe Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0 bzw. 1,0. Die Verteilung der Ergebnisse der Methode RS-F wies eine leicht erhöhte Variabilität mit einem Quotienten $S^*/\sigma_{pt} > 2,0$ auf. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann unter 2,0.

Die robusten Standardabweichungen liegen mit im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden bzw. für Methode RS-F leicht darüber (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 196%, 172% bzw. 173% vom Zusatzniveau von Senf zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.35 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Senf").

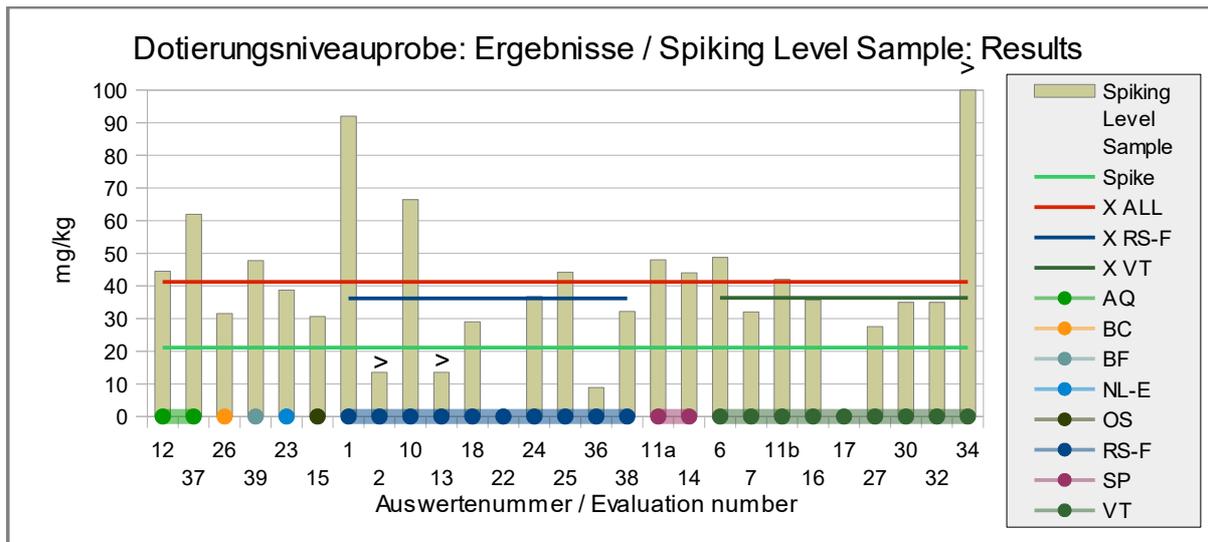


Abb./Fig. 9: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

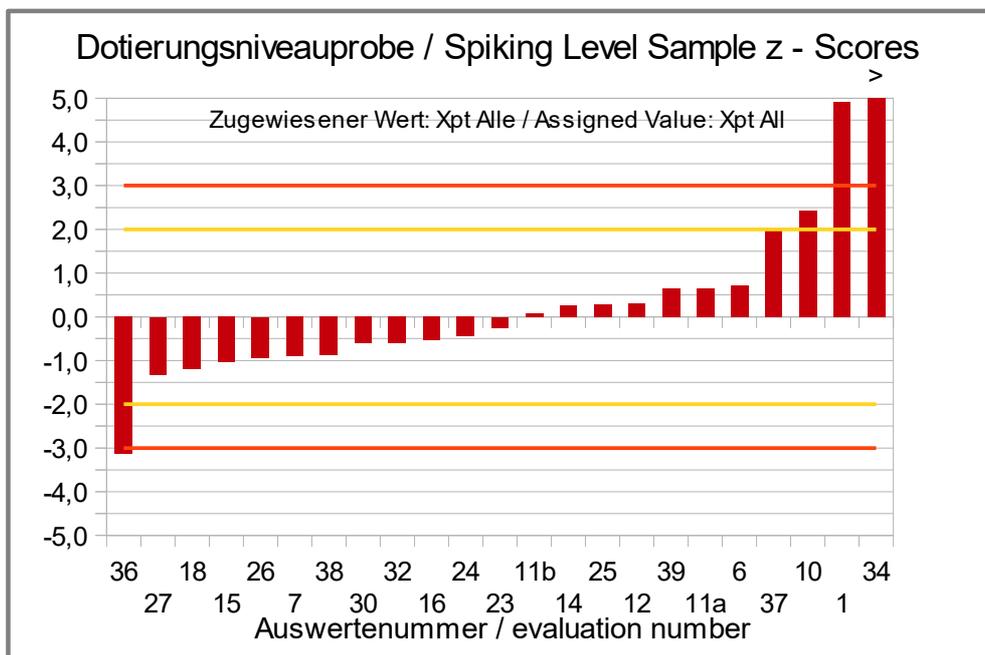


Abb./Fig. 10:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

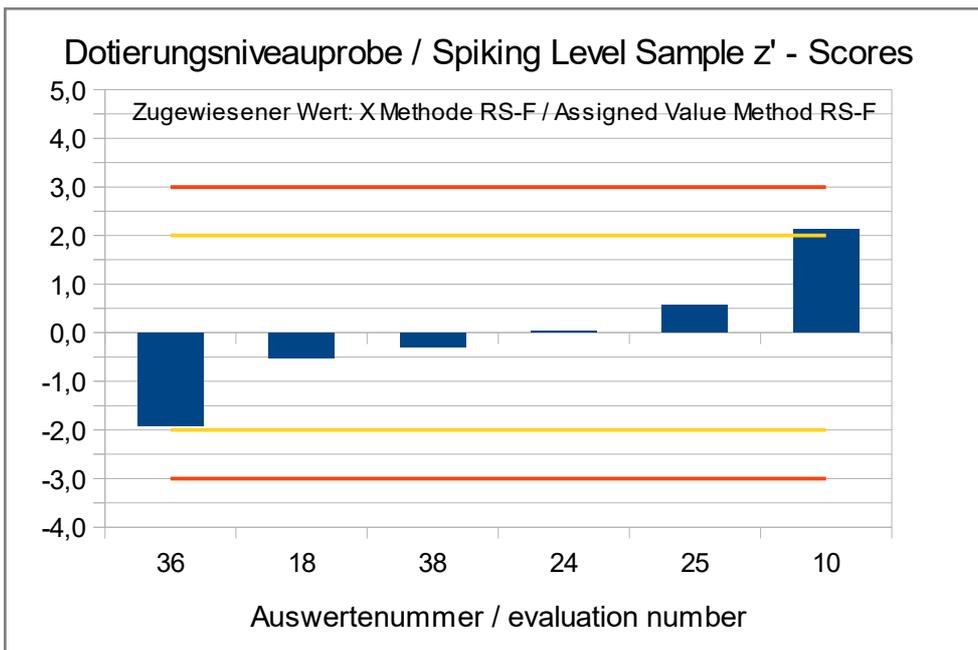


Abb./Fig. 11: z'-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)

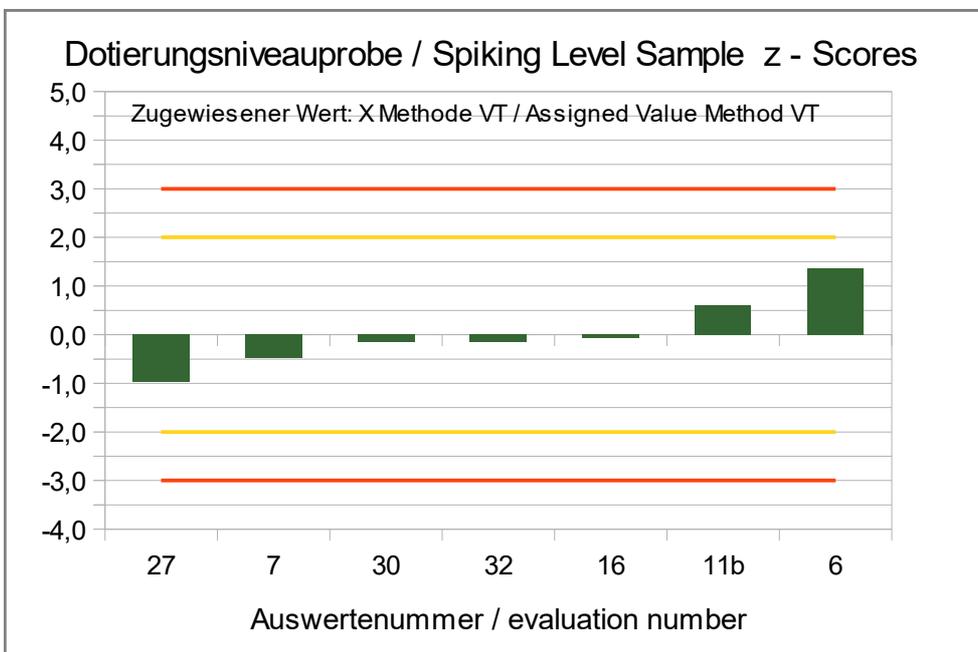


Abb./Fig. 12: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT (Veratox, Neogen)

Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Senf: Dotierungsniveauprobe und Probe B

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe		Wiederfindungsrate*		Probe B		Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]	[%]	[Z _{RR}]				
12	44,5	211	4,4	45,1	184	3,4	AQ			
37	62,0	294	7,8	25,8	105	0,21	AQ			
26	31,6	150	2,0	28,7	117	0,69	BC			
39	47,8	227	5,1	22,4	91	-0,34	BF			
23	38,7	183	3,3	<2,00			NL-E			
15	30,6	145	1,8	28,3	115	0,62	OS			
1	92,0	436	13	105	429	13,1	RS-F			
2	>13,5			>13,5			RS-F			
10	66,4	315	8,6	36,3	148	1,9	RS-F			
13	>13,5			>13,5			RS-F			
18	29,0	137	1,5	37,0	151	2,0	RS-F			
22				>13,5			RS-F			
24	36,7	174	3,0	21,3	87	-0,52	RS-F			
25	44,2	209	4,4	36,7	150	2,0	RS-F			
36	8,90	42	-2,3	8,90	36	-2,5	RS-F			
38	32,2	153	2,1	22,0	90	-0,41	RS-F			
11a	48,0	227	5,1	15,0	61	-1,6	SP			
14	44,0	209	4,3	33,0	135	1,4	SP			
6	48,7	231	5,2	36,0	147	1,9	VT			
7	32,0	152	2,1	35,0	143	1,7	VT			
11b	42,0	199	4,0	47,0	192	3,7	VT			
16	35,7	169	2,8	36,9	151	2,0	VT			
17				35,7	146	1,8	VT			
27	27,6	131	1,2	27,3	111	0,46	VT			
30	35,0	166	2,6	36,0	147	1,9	VT			
32	35,0	166	2,6	41,0	167	2,7	VT			
34	173	821	29	215	876	31	VT	Ergebnis umgerechnet °		

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	4	Anzahl im AB	15
Prozent im AB	17	Prozent im AB	65

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 NL-E = nutriLinia®E Allergen-ELISA
 OS = Orsell
 RS-F = Ridascree® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

17% (4) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 65% (15) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf (*Sinapis alba*)

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		
11	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
23	positiv		negativ		0/0 (0%)	ASU	Proben verwechselt?
35	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
32	negativ		positiv		2/2 (100%)	CEN	
36	negativ		positiv		2/2 (100%)	GR	
4	negativ		positiv	10,0	2/2 (100%)	MS	
3	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
5	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
8	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
38	negativ	<1	positiv	58,0	2/2 (100%)	SFA	
21	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA-4p	
10	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
19	positiv		positiv		1/2 (50%)	div	
28a	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
28b	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	Detektion nur von braunem und schwarzem Senf
33a	negativ		positiv	12,0	2/2 (100%)	div	
33b	negativ		positiv	12,0	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	2	16
Anzahl negativ	16	2
Prozent positiv	11	89
Prozent negativ	89	11
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 CEN = CEN Methode/method
 GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Ein negatives Ergebnis für Probe B wurde mit einer für braunen und schwarzen Senf spezifischen Methode erhalten. Die Probe enthielt jedoch weißen/gelben Senf.

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

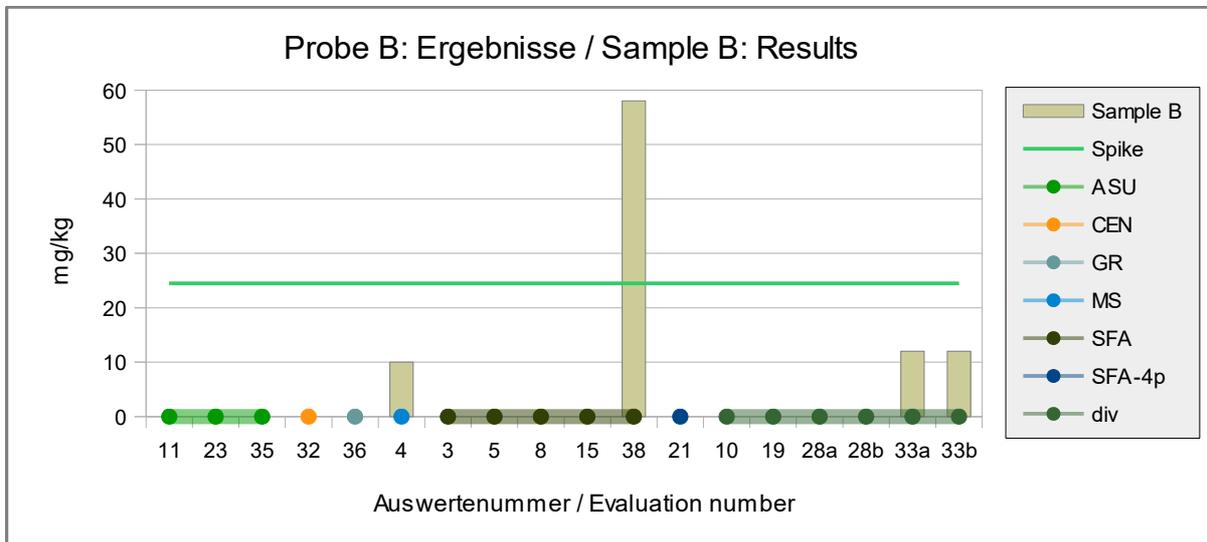


Abb./Fig. 13: PCR-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Senf	Senf	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
11	positiv			ASU	
23	positiv			ASU	
35	positiv			ASU	
32	positiv			CEN	
36	positiv			GR	
4	positiv	10,0		MS	
3	positiv			SFA	
5	positiv			SFA	
8	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
38	positiv	8,59		SFA	
21	positiv			SFA-4p	
10	positiv			div	
19	negativ			div	
28a	positiv			div	
28b	negativ			div	Detektion nur von braunem und schwarzem Senf
33a	positiv	7,00		div	
33b	positiv	8,00		div	

Anzahl positiv	16
Anzahl negativ	2
Prozent positiv	89
Prozent negativ	11
Konsenswert	positiv

Methoden:

- ASU = ASU §64 Methode/method
- CEN = CEN Methode/method
- GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
- MS = Microsynth
- SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
- SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
- div = keine genaue Angabe / andere Methode
- div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden zwei negative Ergebnisse erhalten, eines mit einer für braunen und schwarzen Senf spezifischen Methode. Die Probe enthielt jedoch weißen/gelben Senf.

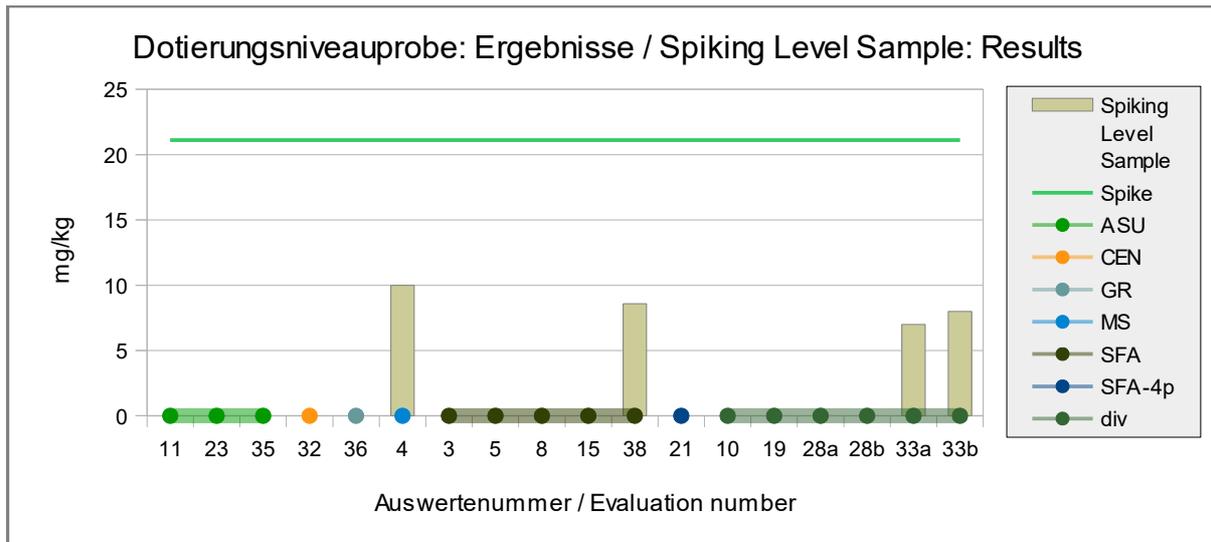


Abb./Fig. 14: PCR-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Senf:
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe		Wiederfindungsrate*		Probe B		Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]		[%]	[Z _{RR}]	[mg/kg]		[%]	[Z _{RR}]		
11									ASU	
23									ASU	
35									ASU	
32									CEN	
36									GR	
4	10,0		47	-2,1	10,0		41	-2,4	MS	
3									SFA	
5									SFA	
8									SFA	
15									SFA	
38	8,59		41	-2,4	58,0		237	5,5	SFA	
21									SFA-4p	
10									div	
19									div	
28a									div	
28b									div	
33a	7,00		33	-2,7	12,0		49	-2,0	div	
33b	8,00		38	-2,5	12,0		49	-2,0	div	

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 CEN = CEN Methode/method
 GR = SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
 MS = Microsynth
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Mit einer Ausnahme liegen die Ergebnisse teilweise sehr knapp unter dem Zielbereich.

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

4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam

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]			
12	negativ	<LOD	positiv	25,4	2/2 (100%)	AQ	
37	negativ	<2	positiv	43,0	2/2 (100%)	AQ	
20	negativ	<2	positiv	36,9	2/2 (100%)	BC	
26	negativ	<2	positiv	42,7	2/2 (100%)	BC	
39	negativ	0	positiv	13,9	2/2 (100%)	BF	
7a	negativ	<1,0	positiv	73,5	2/2 (100%)	ES-I	Ergebnis umgerechnet °
27	negativ	ND	positiv	60,4	2/2 (100%)	ES-I	Ergebnis umgerechnet °
17	negativ	<0,510	positiv	49,4	2/2 (100%)	ES-II	Ergebnis umgerechnet °
33	negativ		positiv	41,0	2/2 (100%)	NL	
1	negativ		positiv	21,0	2/2 (100%)	RS-F	
2	negativ	<2,5	positiv	>20	2/2 (100%)	RS-F	
7b	negativ	<2,5	positiv	110	2/2 (100%)	RS-F	
8	negativ	<2,5	positiv	93,6	2/2 (100%)	RS-F	
9	negativ		positiv	138	2/2 (100%)	RS-F	
10	negativ	<2,4	positiv	135	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<2,5	positiv	190	2/2 (100%)	RS-F	
15	negativ	< 2,5	positiv	>20	2/2 (100%)	RS-F	
16	negativ		positiv	121	2/2 (100%)	RS-F	
18	negativ		positiv	170	2/2 (100%)	RS-F	
22	negativ	<2,5	positiv	>20	2/2 (100%)	RS-F	
23	positiv	100,6	negativ	<2,5	0/0 (0%)	RS-F	Proben verwechselt?
24	negativ	<2,5	positiv	151	2/2 (100%)	RS-F	
29	negativ	<2,5	positiv	125	2/2 (100%)	RS-F	
31	negativ	<2,5	positiv	130	2/2 (100%)	RS-F	
32	negativ		positiv	179	2/2 (100%)	RS-F	
34	negativ	<2,5	positiv	144	2/2 (100%)	RS-F	
35	negativ	< 2,5	positiv	157	2/2 (100%)	RS-F	
36	negativ	<	positiv	135	2/2 (100%)	RS-F	
38	negativ	<2,5	positiv	127	2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ	<2	positiv	26,0	2/2 (100%)	SP	
14	negativ	0	positiv	47,0	2/2 (100%)	SP	
30	negativ	<2,0	positiv	44,0	2/2 (100%)	SP	
6	negativ	<1	positiv	201	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	1	32
Anzahl negativ	32	1
Prozent positiv	3	97
Prozent negativ	97	3
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES-I = ELISA-Systems, new
- ES-II = ELISA-Systems
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B. Ein positives Ergebnis für Probe A wurde mit der Methode RS-F (Ridascreen Fast, R-Biopharm) erhalten.

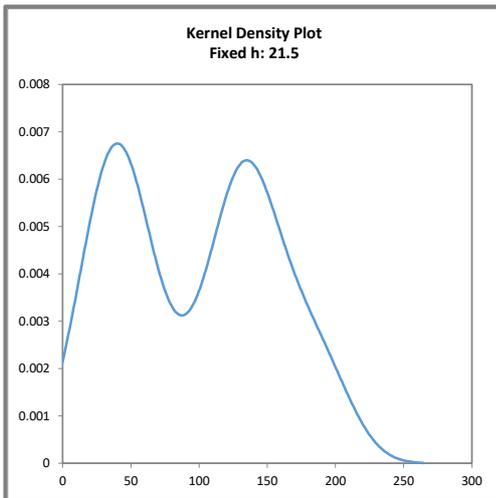
Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

Auswertenummer	Sesam	z-Score Xpt ₄₃	z-Score Xpt ₁₃₇	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]					
12	25,4	-1,6			AQ	
37	43,0	0,14			AQ	
20	36,9	-0,45			BC	
26	42,7	0,11			BC	
39	13,9	-2,7			BF	
7a	73,5	3,1			ES-I	Ergebnis umgerechnet °
27	60,4	1,8			ES-I	Ergebnis umgerechnet °
17	49,4	0,75			ES-II	Ergebnis umgerechnet °
33	41,0	-0,06			NL	
1	21,0		-3,4	-3,4	RS-F	
2	>20				RS-F	
7b	110		-0,86	-0,78	RS-F	
8	93,6		-1,3	-1,3	RS-F	
9	138		-0,06	0,04	RS-F	
10	135		-0,16	-0,06	RS-F	
13	190		1,4	1,6	RS-F	
15	20				RS-F	
16	121		-0,56	-0,47	RS-F	
18	170		0,85	0,97	RS-F	
22	>20				RS-F	
23	<2,5				RS-F	
24	151		0,29	0,40	RS-F	
29	125		-0,43	-0,34	RS-F	
31	130		-0,29	-0,20	RS-F	
32	179		1,1	1,2	RS-F	
34	144		0,10	0,20	RS-F	
35	157		0,48	0,59	RS-F	
36	135		-0,16	-0,06	RS-F	
38	127		-0,37	-0,27	RS-F	
11	26,0	-1,5			SP	
14	47,0	0,52			SP	
30	44,0	0,23			SP	
6	201		1,7		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 ES-I = ELISA-Systems, new
 ES-II = ELISA-Systems
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

**Abb. / Fig. 15:**

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 zwei Peaks bei etwa 42 mg/kg und 140 mg/kg, die jeweils annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse aufweisen. Die höheren Werte (Peak 140) gehen auf die Ergebnisse der Methoden RS-F und VT zurück und wurden deshalb separat ausgewertet.

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

Kenndaten	Methoden Peak 42 [mg/kg]	Methoden Peak 140 [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{42}}$	$X_{pt_{140}}$	$X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$
Anzahl der Messergebnisse	12	17	16
Anzahl der Ausreißer	0	-	-
Mittelwert	41,9	137	133
Median	42,9	135	135
Robuster Mittelwert (X_{pt})	41,6	140	137
Robuste Standardabweichung (S^*)	15,5	34,2	30,5
Zielkenndaten:			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	10,4	35,1	34,2
Untere Grenze des Zielbereichs	20,8	70,1	68,4
Obere Grenze des Zielbereichs	62,4	210	205
Quotient S^*/σ_{pt}	1,5	0,98	0,89
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,60	10,4	9,53
Ergebnisse im Zielbereich	10	16	15
Prozent im Zielbereich	83	94	94

Methoden:

Peak 42 = AgraQuant, BioCheck, BioFront Technologies, ELISA Systems (new), ELISA Systems, nutriLinia®, SensiSpec
Peak 140 = Ridascreen® Fast, Veratox
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine bimodale Verteilung der Ergebnisse. Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern eine Auswertung der Methoden, die den jeweiligen Peaks („Peak 42“ und „Peak 140“) zuzuordnen sind (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Auswertungen der Ergebnisse von Peak 42 und Peak 140, sowie von Methode RS-F zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 89%, 302% bzw. 294% vom Zusatzniveau von Sesam zu Probe B, innerhalb bzw. weit oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.52 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Sesam").

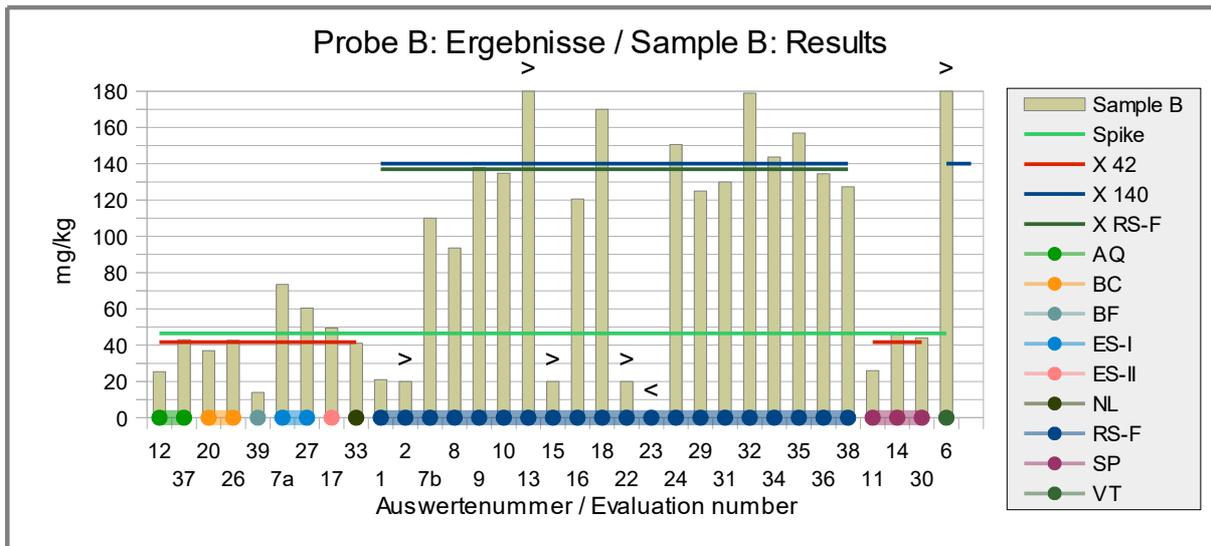


Abb./Fig. 16: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 42“
 blaue Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 140“
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

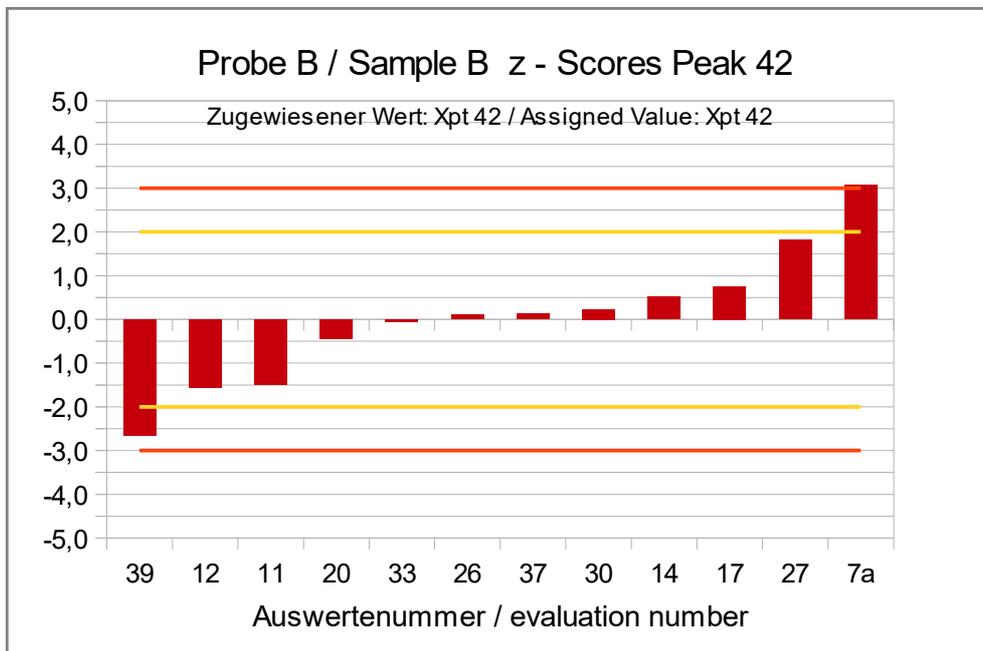


Abb./Fig. 17:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 42

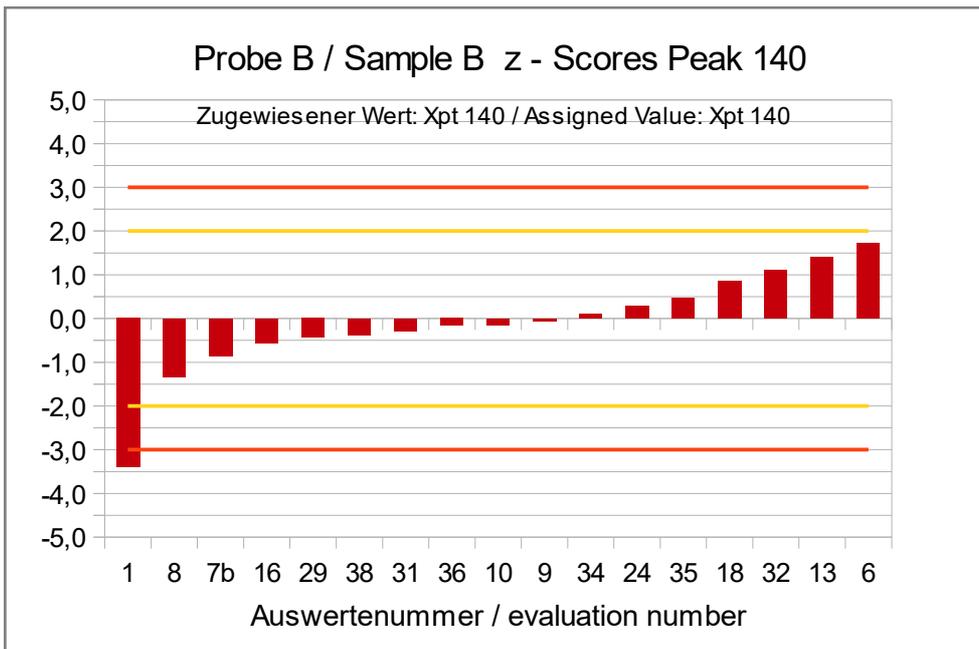


Abb./Fig. 18:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 140

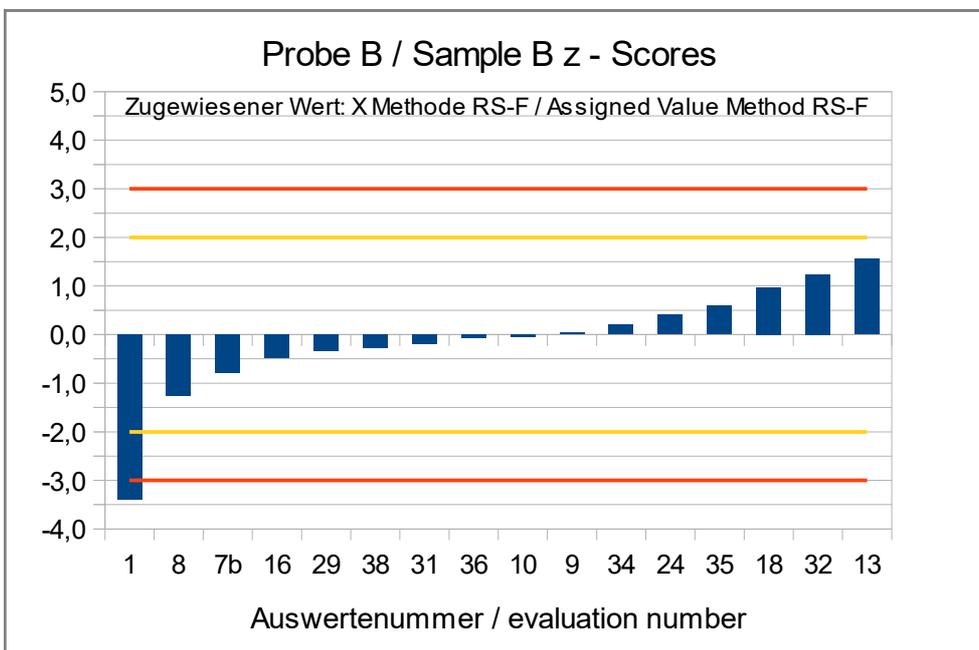


Abb./Fig. 19:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Sesam	z-Score Xpt ₃₇	z-Score Xpt ₁₀₄	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]					
12	18,9	-1,8			AQ	
37	33,5	-0,16			AQ	
20	32,3	-0,30			BC	
26	34,9	0,00			BC	
39	47,9	1,5			BF	
7a	73,5	4,4			ES-I	Ergebnis umgerechnet °
27	61,2	3,0			ES-I	Ergebnis umgerechnet °
17					ES-II	
33	38,0	0,36			NL	
1	25,0		-3,2	-3,2	RS-F	
2	>20				RS-F	
7b	120		-0,11	0,00	RS-F	
8	86,7		-1,2	-1,1	RS-F	
9	100		-0,76	-0,67	RS-F	
10	96,0		-0,89	-0,80	RS-F	
13	147		0,76	0,90	RS-F	
15	>20				RS-F	
16	120		-0,12	-0,02	RS-F	
18	174		1,6	1,8	RS-F	
22					RS-F	
23	103		-0,66	-0,56	RS-F	
24	131		0,26	0,38	RS-F	
29	107		-0,54	-0,44	RS-F	
31	130		0,22	0,34	RS-F	
32	151		0,90	1,0	RS-F	
34	91,7		-1,0	-0,94	RS-F	
35	160		1,2	1,3	RS-F	
36	96,5		-0,87	-0,78	RS-F	
38	160		1,2	1,3	RS-F	
11	22,0	-1,5			SP	
14	42,0	0,81			SP	
30	34,0	-0,10			SP	
6	204		2,6		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

ES-I = ELISA-Systems, new

ES-II = ELISA-Systems

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

RS-F = Ridascree® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

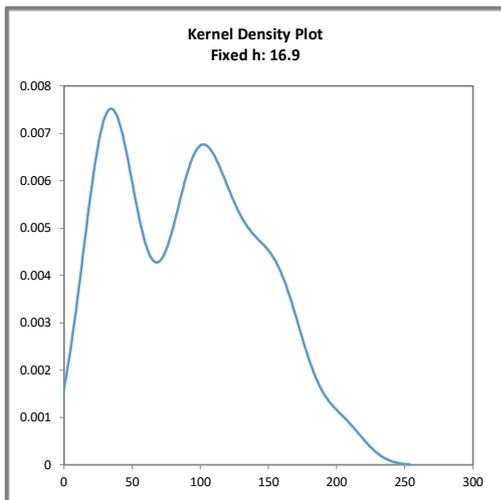


Abb. / Fig. 20:

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 zwei Peaks bei etwa 35 mg/kg und 123 mg/kg, die jeweils annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse aufweisen. Der Peak bei 123 mg/kg hat zusätzlich noch eine Schulter bei etwa 155 mg/kg. Die höheren Werte („Peak 123“) gehen auf die Ergebnisse der Methoden RS-F und VT zurück und wurden deshalb separat ausgewertet.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Methoden Peak 35 [mg/kg]	Methoden Peak 123 [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}_{35}	X_{pt}_{123}	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	11	18	17
Anzahl der Ausreißer	0	0	0
Mittelwert	39,8	122	118
Median (X_{pt})	34,9⁺	120	120
Robust Mean (X_{pt})	38,8	123⁺	120⁺
Robuste Standardabweichung (S^*)	15,8	36,7	33,7
Zielkenndaten:			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	8,73	30,8	30,0
Untere Grenze des Zielbereichs	17,5	61,7	60,0
Obere Grenze des Zielbereichs	52,4	185	180
Quotient S^*/σ_{pt}	1,8	1,2	1,1
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,97	10,8	10,2
Ergebnisse im Zielbereich	9	16	16
Prozent im Zielbereich	82	89	94

⁺ Bezugswert (X_{pt})

Methoden:

Peak 35 = AgraQuant, BioCheck, BioFront Technologies, ELISA Systems (new), ELISA Systems, nutriLinia®, SensiSpec

Peak 123 = Ridascreen® Fast, Veratox

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine bimodale Verteilung der Ergebnisse. Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern eine Auswertung der Methoden, die den jeweiligen Peaks („Peak 35“ und „Peak 123“) zuzuordnen sind (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Auswertungen der Ergebnisse von Peak 35 und Peak 123, sowie von Methode RS-F zeigten eine normale bis niedrige Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 2,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im bzw. im oberen Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der Median bzw. die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 87%, 308% bzw. 299% vom Zusatzniveau von Sesam zur Dotierungsniveauprobe, innerhalb bzw. weit oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.52 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Sesam").

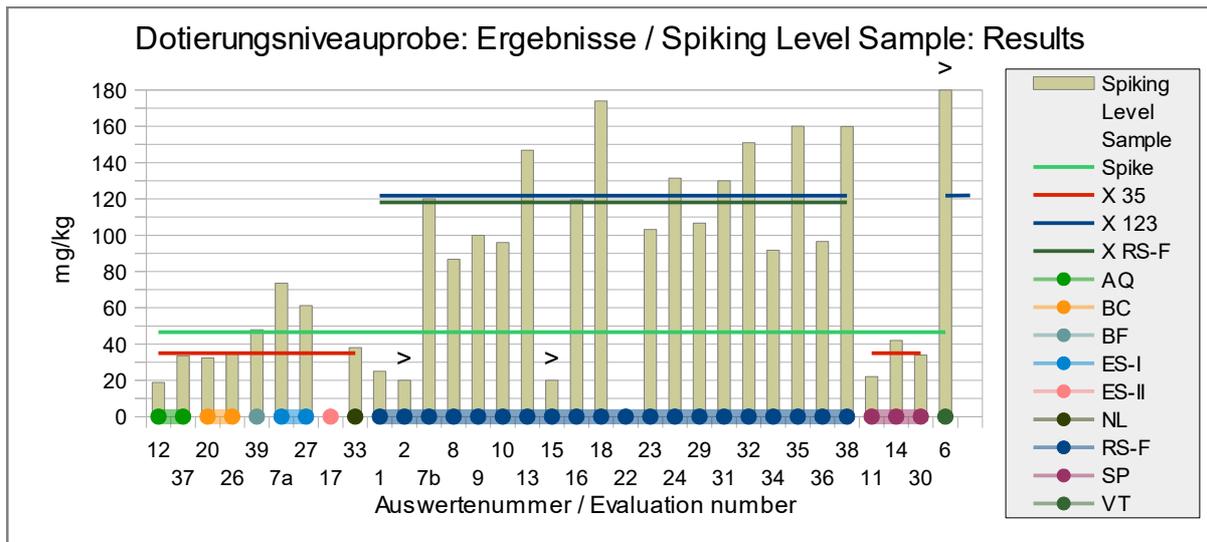


Abb./Fig. 21: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Median aller Ergebnisse von „Peak 35“
 blaue Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 123“
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

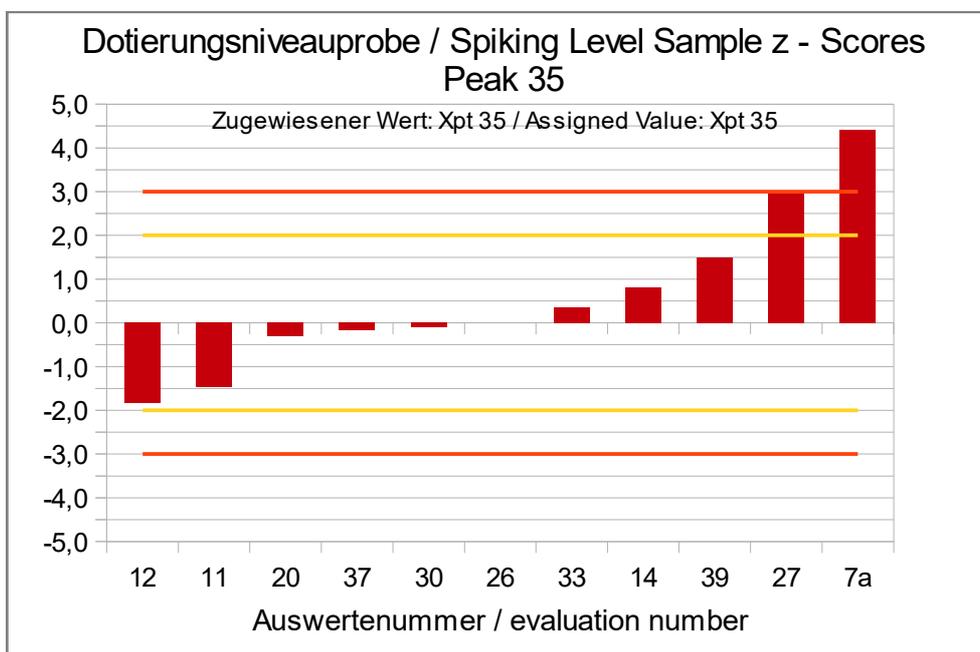


Abb./Fig. 22:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse von Peak 35

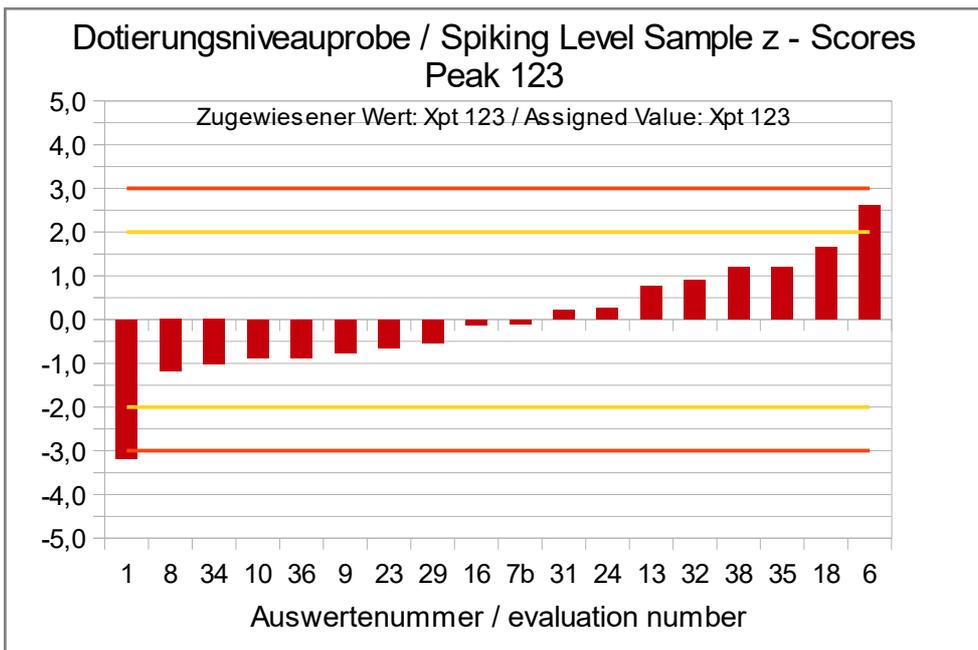


Abb./Fig. 23:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 123

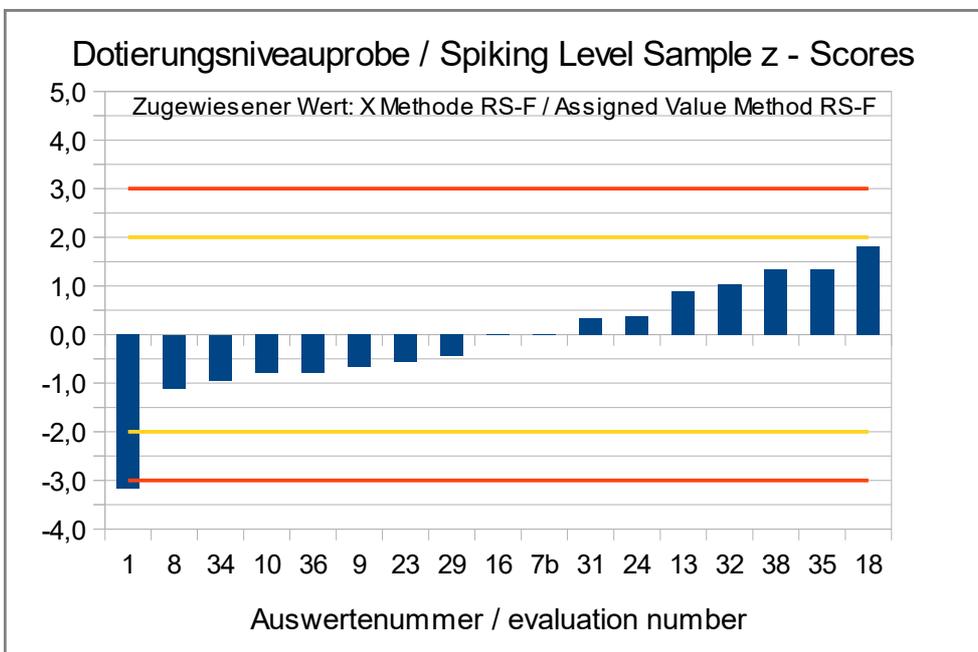


Abb./Fig. 24:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Sesam) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreeen Fast)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Sesam:
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
12	120	299	8,0	25,4	55	-1,8	AQ	
37	33,5	84	-0,66	43,0	92	-0,30	AQ	
20	32,3	81	-0,78	36,9	79	-0,83	BC	
26	34,9	87	-0,52	42,7	92	-0,33	BC	
39	47,9	119	0,78	13,9	30	-2,8	BF	
7a	73,5	183	3,3	73,5	158	2,3	ES-I	Ergebnis umgerechnet °
27	61,2	153	2,1	60,4	130	1,2	ES-I	Ergebnis umgerechnet °
17				49,4	106	0,25	ES-II	Ergebnis umgerechnet °
33	38,0	95	-0,21	41,0	88	-0,47	NL	
1	25,0	62	-1,5	21,0	45	-2,2	RS-F	
2	>20			>20			RS-F	
7b	120	299	8,0	110	237	5,5	RS-F	
8	86,7	216	4,6	93,6	201	4,1	RS-F	
9	100	249	6,0	138	297	7,9	RS-F	
10	96,0	239	5,6	135	290	7,6	RS-F	
13	147	366	11	190	408	12	RS-F	
15	>20			>20			RS-F	
16	120	298	7,9	121	259	6,4	RS-F	
18	174	434	13	170	366	11	RS-F	
22				>20			RS-F	
23	103	257	6,3	<2,5			RS-F	
24	131	328	9,1	151	324	9,0	RS-F	
29	107	266	6,6	125	269	6,8	RS-F	
31	130	324	9,0	130	280	7,2	RS-F	
32	151	377	11	179	385	11	RS-F	
34	91,7	229	5,1	144	309	8,4	RS-F	
35	160	399	12	157	338	9,5	RS-F	
36	96,5	241	5,6	135	289	7,6	RS-F	
38	160	399	12	127	274	7,0	RS-F	
11	22,0	55	-1,8	26,0	56	-1,8	SP	
14	42,0	105	0,19	47,0	101	0,04	SP	
30	34,0	85	-0,61	44,0	95	-0,22	SP	
6	204	508	16	201	432	13	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	9	Anzahl im AB	10
Prozent im AB	31	Prozent im AB	34

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES-I = ELISA-Systems, new
- ES-II = ELISA-Systems
- NL = nutrilinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

31% (9) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 34% (10) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
1	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
11	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
25	negativ	<2.5	positiv	9,40	2/2 (100%)	ASU	
4	negativ		positiv	10,0	2/2 (100%)	MS	
3	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
5	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
15	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
38	negativ	<1	positiv	176	2/2 (100%)	SFA-ID	
10	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
28	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
32	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	
33a	negativ		positiv	13,0	2/2 (100%)	div	
33b	negativ		positiv	12,0	2/2 (100%)	div	
36	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	15
Anzahl negativ	15	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Einzelergebnisse (ohne Berücksichtigung von Ergebnis Nr. 38) vorliegen.

Kenndaten: Quantitative Auswertung PCR Sesam (zur Information)

Probe B

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	
Mittelwert	44,0
Median	12,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	12,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,33
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	
Untere Grenze des Zielbereichs	
Obere Grenze des Zielbereichs	
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	
<i>Prozent im Zielbereich</i>	

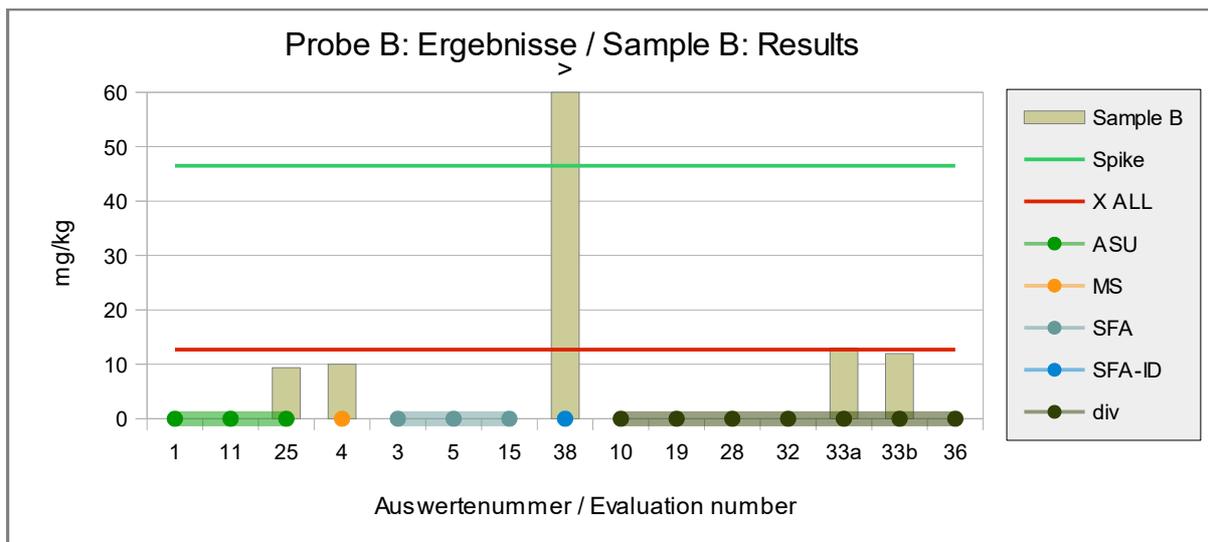


Abb./Fig. 25: PCR-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil nur wenige Einzelergebnisse mit hoher Streuung vorlagen.

Auswertenummer	Sesam pos/neg	Sesam [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
1	positiv			ASU	
11	positiv			ASU	
25	positiv	15,0		ASU	
4	positiv	40,0		MS	
3	positiv			SFA	
5	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
38	positiv	72,4		SFA-ID	
10	positiv			div	
19	positiv			div	
28	positiv			div	
32	positiv			div	
33a	positiv	10,0		div	
33b	positiv	7,00		div	
36	positiv			div	

Anzahl positiv	15
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Es wurden zu 100% positive Ergebnisse für die Dotierungsniveauprobe erhalten.

Kenndaten: Quantitative Auswertung PCR Sesam (zur Information)

Dotierungsniveauprobe

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt}^{ALL}
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	
Mittelwert	28,9
Robuster Mittelwert	28,9
Median	15,0
Robuste Standardabweichung (S*)	31,3
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	
Untere Grenze des Zielbereichs	
Obere Grenze des Zielbereichs	
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	
<i>Prozent im Zielbereich</i>	

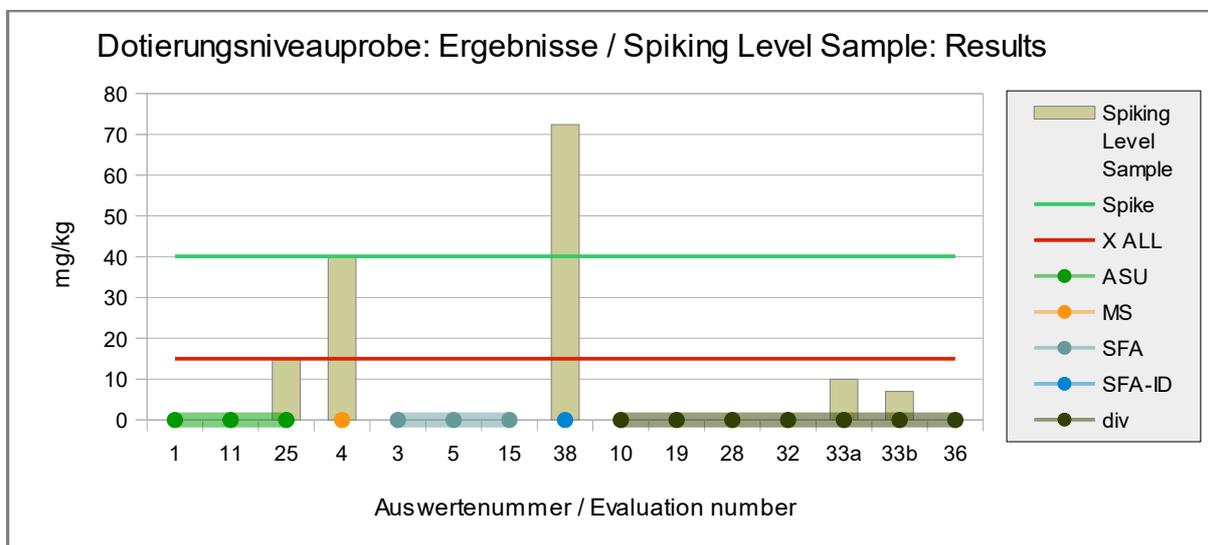


Abb./Fig. 26: PCR-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = Median aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scoes PCR für Sesam:
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
1							ASU	
11							ASU	
25	15,0	37	-2,5	9,40	20	-3,2	ASU	
4	40,0	100	-0,01	10,0	22	-3,1	MS	
3							SFA	
5							SFA	
15							SFA	
38	72,4	181	3,2	176	378	11	SFA-ID	
10							div	
19							div	
28							div	
32							div	
33a	10,0	25	-3,0	13,0	28	-2,9	div	
33b	7,00	17	-3,3	12,0	26	-3,0	div	
36							div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	20	Prozent im AB	0

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

MS = Microsynth

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Einer der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lag keine der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA Senf: Xpt (div. Methoden)		ELISA Senf: Xpt (Methode: RS-F)		ELISA Senf: Xpt (Methode: VT)		ELISA Sesam: Xpt („Peak 43“ bzw. „Peak 37“)		ELISA Sesam: Xpt („Peak 137“ bzw. „Peak 104“)		ELISA Sesam: Xpt (Methode: RS-F)	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1	8,6	4,9	-	-	-	-	-	-	-3,4	-3,2	-3,4	-3,2
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	0,33	0,72	-	-	-0,09	1,4	-	-	1,7	2,6	-	-
7/7a	0,21	-0,90	-	-	-0,19	-0,48	3,1	4,4	-	-	-	-
7b	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,86	-0,11	-0,78	0,00
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-1,3	-1,2	-1,3	-1,1
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,06	-0,76	0,04	-0,67
10	0,37	2,4	1,4	2,1	-	-	-	-	-0,16	-0,89	-0,06	-0,80
11/ 11a	-2,2	0,65	-	-	-	-	-1,5	-1,5	-	-	-	-
11b	1,7	0,07	-	-	1,1	0,62	-	-	-	-	-	-
12	1,4	0,31	-	-	-	-	-1,6	-1,8	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	0,76	1,6	0,90
14	-0,03	0,27	-	-	-	-	0,52	0,81	-	-	-	-
15	-0,60	-1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	0,44	-0,54	-	-	0,01	-0,08	-	-	-0,56	-0,12	-0,47	-0,02
17	0,30	-	-	-	-0,12	-	0,75	-	-	-	-	-
18	0,45	-1,2	1,5	-0,51	-	-	-	-	0,85	1,6	0,97	1,8
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-0,45	-0,30	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-0,25	-	-	-	-	-	-	-	-0,66	-	-0,56
24	-1,4	-0,44	-0,85	0,04	-	-	-	-	0,29	0,26	0,40	0,38
25	0,42	0,28	1,4	0,56	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-0,55	-0,94	-	-	-	-	0,11	0,00	-	-	-	-
27	-0,71	-1,3	-	-	-1,0	-0,97	1,8	3,0	-	-	-	-
28/ 28a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,43	-0,54	-0,34	-0,44
30	0,33	-0,61	-	-	-0,08	-0,15	0,23	-0,10	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,29	0,22	-0,20	0,34
32	0,93	-0,61	-	-	0,46	-0,15	-	-	1,1	0,90	1,2	1,0
33/ 33a	-	-	-	-	-	-	-0,06	0,36	-	-	-	-
33b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	22	13	-	-	-	-	-	-	0,10	-1,0	0,20	-0,94
35	-	-	-	-	-	-	-	-	0,48	1,2	0,59	1,3
36	-2,9	-3,1	-2,7	-1,9	-	-	-	-	-0,16	-0,87	-0,06	-0,78
37	-0,89	2,0	-	-	-	-	0,14	-0,16	-	-	-	-
38	-1,4	-0,88	-0,74	-0,29	-	-	-	-	-0,37	1,2	-0,27	1,3
39	-1,3	0,63	-	-	-	-	-2,7	1,5	-	-	-	-

Methoden: RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen

° z'-Score

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

- 2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)
- 2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)
- 3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

Z-Scores für die zugewiesenen Werte des Zusatzniveaus (Wiederfindungsraten)

Auswertenummer	ELISA Senf:		ELISA Sesam:		PCR Sellerie:		PCR Senf:		PCR Sesam:	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1	13	13	-2,2	-1,5	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-0,15	-2,4	-2,1	-3,1	-0,01
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	1,9	5,2	13	16	-	-	-	-	-	-
7/ 7a	1,7	2,1	2,3	3,3	-	-	-	-	-	-
7b	-	-	5,5	8,0	-	-	-	-	-	-
8	-	-	4,1	4,6	-	-	-	-	-	-
9	-	-	7,9	6,0	-	-	-	-	-	-
10	1,9	8,6	7,6	5,6	-	-	-	-	-	-
11/ 11a	-1,6	5,1	-1,8	-1,8	-	-	-	-	-	-
11b	3,7	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-
12	3,4	4,4	-1,8	-2,1	-	-	-	-	-	-
13	-	-	12	11	-	-	-	-	-	-
14	1,4	4,3	0,04	0,19	-	-	-	-	-	-
15	0,62	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-
16	2,0	2,8	6,4	7,9	-	-	-	-	-	-
17	1,8	-	0,25	-	-	-	-	-	-	-
18	2,0	1,5	11	13	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-0,83	-0,78	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	3,3	-	6,3	-	-	-	-	-	-
24	-0,52	3,0	9,0	9,1	-	-	-	-	-	-
25	2,0	4,4	-	-	-	-	-	-	-3,2	-2,5
26	0,69	2,0	-0,33	-0,52	-	-	-	-	-	-
27	0,46	1,2	1,2	2,1	-	-	-	-	-	-
28/ 28a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	6,8	6,6	-	-	-	-	-	-
30	1,9	2,6	-0,22	-0,61	-	-	-	-	-	-
31	-	-	7,2	9,0	-	-	-	-	-	-
32	2,7	2,6	11	11	-	-	-	-	-	-
33/ 33a	-	-	-0,47	-0,21	-3,7	-3,7	-2,0	-2,7	-2,9	-3,0
33b	-	-	-	-	-3,2	-3,4	-2,0	-2,5	-3,0	-3,3
34	31	29	8,4	5,1	-	-	-	-	-	-
35	-	-	9,5	12	-	-	-	-	-	-
36	-2,5	-2,3	7,6	5,6	-	-	-	-	-	-
37	0,21	7,8	-0,30	-0,66	-	-	-	-	-	-
38	-0,41	2,1	7,0	12	0,58	2,0	5,5	-2,4	11	3,2
39	-0,34	5,1	-2,8	0,78	-	-	-	-	-	-

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

- 2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)
- 2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)
- 3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: Senf

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD*	BG/ LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	12	07.07.20	negativ	<LOD	-	45,1	-	44,5	1	2		Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
AQ	37	25.06.20	negativ	<2	positiv	25,8	positiv	62		2		Senf	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs
BC	26	02.07.20	negativ	<2	positiv	28,7	positiv	31,6	2	2	50	ganzer Senf	BioCheck ELISA Mustard-Check
BF	39	21/8	negativ	0	positiv	22,4	-	47,8	0,13	1		Senf	MonoTrace Mustard ELISA kit, BioFront Technologies
NL-E	23	15.06.	positiv	38,9	negativ	<2,00	positiv	38,7	1	2	25	Senf	NutriLinia; Mustard-E Kit
OS	15		negativ	< 2	positiv	28,28	positiv	30,63		2		Senf	ORSELL EZ-PLATE MUSTARD
RS-F	1		negativ		positiv	105	positiv	92	0,5	0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	2	29.06.20	negativ	<0,5	positiv	>13,5	positiv	>13,5		0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	10	01.07.20	-	<0,5	-	36,3	-	66,4	0,1	0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	13	06.07.20	negativ	<2,5	positiv	>13,5	positiv	>13,5	-	0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	18	02.07.20	negativ		positiv	37	positiv	29	0,5	0,5	39,44	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	22	18.06.20	-	<0,5	-	>13,5	-			0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	24	1. Juli	negativ	<0,5	positiv	21,29	positiv	36,74	0,5	0,5	30,94	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	25	12.08.20	-	<0,5	-	36,7	-	44,2				Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	36	19.08.20	-	<	-	8,9	-	8,9		0,5	22	Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	38	09.07.20	negativ	<0,5	positiv	22,01	positiv	32,18	0,5	0,5		Senf	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
SP	11a	25.6.	negativ	<2	positiv	15	positiv	48	1	2		Senf	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins
SP	14	15.06.20	negativ	0	positiv	33	positiv	44	1	2		Senf	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins
VT	6	06.07.20	negativ	<1	positiv	35,98	positiv	48,73		1		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	7	2020/6/23	negativ	<2,5	positiv	35	positiv	32		5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	11b	18.06.	negativ	<2,5	positiv	47	positiv	42	1,5	2,5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	16	26.06.20	negativ		positiv	36,9	positiv	35,7		2,5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	17	21.07.20	negativ	<1.0	positiv	35,7	Nicht getestet		1	2,5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	27	24.06.20	negativ	ND	positiv	27,3	positiv	27,6		2,5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	30	20.07.20	negativ	<2,5	positiv	36	positiv	35	2,5	2,5	50	Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	32		negativ		positiv	41	positiv	35		2,5		Senf	Veratox Mustard, Neogen
VT	34	July/Aug	negativ	<2,5	positiv	65,7	positiv	53	2,5	2,5	28,1	Senfprotein	Veratox Mustard, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	12	Polyklonal zu ganzem Senf	Extraktionspuffer erhitzt auf 60°C. 1g Probe extrahiert in 20 ml Extraktionspuffer. Schütteln für 15 Minuten und dann zentrifugieren für 10 Minuten.	ja	
AQ	37			ja	
BC	26		0.5g Probe/10ml Extraktionspuffer/15min/60°C	ja	
BF	39	Monoklonale Antikörper	1:20 Extraktionsverhältnis, 1 Stunde bei 60°C	nein	
NL-E	23	Senfproteine, o.A.	Extraktionspuffer Mustard-E; 60°C, 5 min	ja	
OS	15			ja	
RS-F	1			ja	
RS-F	2				
RS-F	10			Ja	
RS-F	13	-	Kit Extraktionslösung / 10min / 60°C	nein	
RS-F	18	Senfprotein (nicht spezifiziert durch den Anbieter)	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
RS-F	22		Senf-Extraktionspuffer, 10 min, 60°C	ja	
RS-F	24			ja	
RS-F	25				
RS-F	36			ja	
RS-F	38		Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
SP	11a	erkennt Senfproteine	lt. Hertsellerangaben	ja	
SP	14				Zusätzliche Verdünnung von 1:5 nach Extraktion
VT	6		2 g Probe in 125 mL verdünntem Extraktionspuffer (1:10); 15 Minuten, 60°C	nein	
VT	7	Poly/Mono	Tris EDTALösung / 15 min / 60°C	ja	Einzelergebnis
VT	11b	erkennt Senfprotein aus Samen von Weißem Senf (Sinapis alba), Schwarzem Senf (Brassica nigra) und Braunem Senf (Brassica juncea)	lt. Hertsellerangaben	ja	
VT	16			ja	
VT	17		Extraktion: 60°C vor-erhitzen TRIS Extraktionspuffer/ Proben extrahiert in Schüttel-Wasserbad bei 60°C für 15 min. Zentrifugation. Bestimmung: 4-Parameter-Kurve	ja	
VT	27			ja	
VT	30		Tris/EDTA/55-60 Grad/15 min	ja	
VT	32			nein	LFOP-TST-SOP-8828
VT	34		960ml dh20 + 40mls PBS Tween/30 Minuten/60°C - Extraktion. 30 Minuten ELISA Analyse.	ja	

5.1.2 ELISA: Sesam

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD*	BG/ LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	12	08.07.20	negativ	<LOD	-	25,4	-	18,9	0,2	2		Sesam	AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
AQ	37	23.06.20	negativ	<2	positiv	43	positiv	33,5		2		Sesam	AgraQuant ELISA Sesame COKAL1948, RomerLabs
BC	20	02.07.20	-	<2	-	36,9	-	32,3	0,2	2	30	Sesam	BioCheck ELISA Sesame-Check
BC	26	02.07.20	negativ	<2	positiv	42,7	positiv	34,9	2	2	50	ganzer Sesam	BioCheck ELISA Sesame-Check
BF	39	21/8	negativ	0	positiv	13,9	-	47,9	0,3	1		Sesam	MonoTrace Sesame ELISA kit, BioFront Technologies
ES-I	7	2020/6/25	negativ	<0.25	positiv	18	positiv	18		2,5		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESE-48
ES-I	27	13 Aug.	negativ	ND	positiv	14,8	positiv	15		0,25		Sesamprotein	Elisa Systems ESSESE-48
ES-II	17	02.07.20	negativ	<0.125	positiv	12,1	Nicht getestet		0,125	0,25		Sesamprotein	ELISA Systems Sesame ESSESRD-48
NL	33	20.08.20	negativ		positiv	41	positiv	38	0,2	2	30	Sesam	NutriLinia NC-6005
RS-F	1		negativ		positiv	21	positiv	25	2,5	2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	2	29.06.20	negativ	<2,5	positiv	>20	positiv	>20		2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	7	2020/6/25	negativ	<2.5	positiv	110	positiv	120		25		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	8	24.06.20	-	<2,5	-	93,6	-	86,7	<0,14	<2,5	50	Sesam	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm
RS-F	9	08.07.20	negativ		positiv	138	positiv	100	0,1	2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	10	13.07.20	-	<2.4	-	134,8	-	96	0,14	2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	13	24.06.20	negativ	<2,5	positiv	>20	positiv	>20	-	2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	15		negativ	< 2,5	positiv	>20	positiv	>20		2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	16	23.06.20	negativ		positiv	120,5	positiv	119,5		2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	18	06.08.20	negativ		positiv	170	positiv	174	2,5	2,5	38,64	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	22	10.07.20	-	<2,5	-	>20	-			2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	23	16.06.	positiv	100,6	negativ	<2,5	positiv	103,1	0,14	2,5	25	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	24	22nd July	negativ	<2.5	positiv	150,55	positiv	131,38	2,5	2,5	27,13	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	29		negativ	<2.5	positiv	125	positiv	106,7		2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	31	10.08.20	-	<2.5	-	130	-	130	0,2	2,5	26	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	32		negativ		positiv	179	positiv	151	1,2	4		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	34	Juli/Aug	negativ	<2.5	positiv	143,7	positiv	91,7	2,5	2,5	49,4	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	35		negativ	< 2,5	positiv	157	positiv	160	2,5	5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	36	19.08.20	-	<	-	134,5	-	96,5		2,5	24	Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
RS-F	38	09.07.20	negativ	<2.5	positiv	127,33	positiv	159,92	2,5	2,5		Sesam	Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm
SP	11	18.06.	negativ	<2	positiv	26	positiv	22	1,5	2		Sesam	SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins
SP	14	15.06.20	negativ	0	positiv	47	negativ	42	0.2	2		Sesam	SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins
SP	30	20.07.20	negativ	<2,0	positiv	44	positiv	34	0,5	2	50	Sesam	Eurofins Technologies
VT	6	06.07.20	negativ	<1	positiv	200,79	positiv	203,63		1		Sesam	Veratox Sesame Allergen, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Sesam:

AQ	12	Polyklonal zu ganzem Sesam	Extraktionspuffer erhitzt auf 60°C. 1g Probe extrahiert in 20 ml Extraktionspuffer. Schütteln für 15 Minuten und dann zentrifugieren für 10 Minuten.	ja	
AQ	37			ja	
BC	20			ja	
BC	26		0.5g Probe/10ml Extraktionspuffer/15min/60°C	ja	
BF	39	Monoklonale Antikörper	1:20 Extraktionsverhältnis, 1 Stunde bei 60°C	nein	
ES-I	7	Polyklonal/ Monoklonal	Extraktionslösungskonzentrat / 15 min / 60°C	ja	Einzelergebnis
ES-I	27			ja	
ES-II	17	Anti-Sesamsamen 2S-albumin	Extraktion: Raumtemperatur PBS Extraktionspuffer (pH check) und Proben extrahiert in Schüttel-Wasserbad bei 60°C für 15 min. Zentrifugation. Bestimmung: 4-Parameter kurve	ja	
NL	33		laut Manual	ja	erweiterte MU (k=2)
RS-F	1			ja	
RS-F	2				
RS-F	7		Extraktionslösungskonzentrat / 15 min / 60°C	ja	Einzelergebnis
RS-F	8			nein	
RS-F	9	entsprechend Testkit	entsprechend Testkit	ja	
RS-F	10			Ja	
RS-F	13	-	Kit Extraktionslösung / 10min / 60°C	ja	Probe B: 189,8mg/Kg und Dotierungsniveau-probe 146,8mg/Kg (Ergebnisse außerhalb akkreditiertem Bereich)
RS-F	15			ja	
RS-F	16			ja	
RS-F	18	Sesamprotein (nicht spezifiziert durch den Anbieter)	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
RS-F	22		Sesam-Extraktionspuffer, 10 min, 60°C	nein	
RS-F	23	Sesamproteine, o.A.	Extraktionspuffer Sesam 60°C, 10 min	ja	
RS-F	24			ja	
RS-F	29			nein	
RS-F	31	Sesamprotein	AEP, 60°C, 10min, Zentrifugieren 2500g	ja	
RS-F	32			ja	LFOP-TST-SOP-8867
RS-F	34		20mls Sesam-Extraktionspuffer (enthält Magermilchpulver) - 10Mminuten/60°C - Extraktion. 30 Minutn ELISA Analyse.	ja	
RS-F	35			ja	
RS-F	36			ja	
RS-F	38		Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
SP	11	erkennt Sesamproteine	lt. Hertsellerangaben	ja	
SP	14				Zusätzliche Verdünnung von 1:5 nach Extraktion
SP	30		Tris/EDTA/60 Grad/15 min	ja	
VT	6		1 g Probe in 125 mL verdünntem Extraktionspuffer (1:10); 15 Minuten, 60°C	ja	

5.1.3 PCR: Sellerie

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD*	BG/ LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein	Methode	
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg						mg/kg
			negativ		positiv		positiv		100			Sellerie-DNA	PCR Test-Kit + Anbieter	
ASU	1		negativ		positiv		positiv		50			Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method	
ASU	11	18.06.20	negativ		positiv		positiv		1		25	Sellerie-DNA	ASU §64 Methode/method	
ASU	23	15.06.	positiv	-	negativ	-	positiv	-	5	nd		Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method	
CEN	28	27.07.20	negativ		positiv		positiv		10			Bitte auswählen!	CEN/TS 15634-2	
CEN	32		negativ		positiv		positiv		0,4			Please select!	EN 15634-2:2019	
IM	8	23.06.20	negativ		positiv		positiv		30	10	10	45	Bitte auswählen!	andere: Imegen
MS	4	06.07.20	negativ		negativ		positiv		0,4	1			Sellerie-DNA	Auswahl PCR-Methoden
SFA	3	29.06.20	negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	Sellerie-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	5		negativ		positiv		positiv		0,4				Bitte auswählen!	Selection PCR-Methods
SFA	15		negativ		positiv		positiv		2				Sellerie-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	22	24.06.20	negativ		positiv		positiv		5				Sellerie-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	34	Jun/Jul	negativ		positiv		positiv						Sellerie-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	21	29.06.20	negativ		positiv		positiv						Sellerie-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	38	24.07.20	negativ	<1	positiv	41,49	positiv	46,8	1	1			Sellerie	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	10	06.07.20	negativ		positiv		positiv						Sellerie-DNA	andere: bitte eingeben!
div	18	30.06.20	negativ		positiv		positiv		1			Bitte auswählen!	Selection PCR-Methods	
div	19	01.08.20	negativ		positiv		positiv		0,008					Hausmethode
div	24	7th August	negativ	<1	positiv	>1	positiv	>1	1	1			Sellerie	Andere: Bitte ausfüllen!
div	33a	20.08.20	negativ		positiv	3	positiv	2			40	Selleriesamen, getr.		in house
div	33b	20.08.20	negativ		positiv	7	positiv	5			40	Selleriesamen, getr.		in house
div	36	16.07.20	negativ		positiv		positiv		0,4			Sellerie-DNA	LifePrint: detection of Celery DNA	
div	37	17.08.20	negativ		positiv		positiv		10				Sellerie	Hausmethode

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze
 * LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation
 * MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Sellerie:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz/-DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	1			ja	
ASU	11		CTAB, Proteinase K / Promega Wizard DNA CleanUp / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L 08.00-56:2014-08
ASU	23	MDH-Gen	CTAB; Proteinase K; Chloroform; Clean-up: Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen)	ja	
CEN	28	Mannitoldehydrogenase	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Cyclen	ja	
CEN	32		Extraktion durch EN 15634-2:2019 (CTAB) / Realtime PCR/ 40 Cyclen	nein	EN 15634-2:2019
IM	8			ja	
MS	4	Sellerie-DNA	Microsynth	ja	
SFA	3	Sellerie	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	nein	
SFA	5		CTAB extraction + CONGEN PCR		
SFA	15			ja	
SFA	22		Prep Advance Surefood/Taq Polymerase/ RT PCR/45 Cyclen	ja	
SFA	34		Extraktionskit- Neogen Biokit DNA Extraktionskit für GVO & Allergene.	ja	
SFA-4p	21		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	nein	
SFA-ID	38		Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
div	10	Mannitoldehydrogenase-Gen	Eigenes RT-qPCR System	Ja	
div	18	Sellerie DNA (nicht spezifiziert durch den Anbieter)	Gemäß Kit-Anweisungen	nein	
div	19			ja	
div	24	MTD	eigenen Primer verwendet	ja	
div	33a	Mannitol Dehydrogenase	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2)
div	33b	internal transcribed spacer	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2); Sellerie multicopy
div	36		Extraktion> Nucleo Spin Food, Real Time PCRQuantStudio5. 7500 Fast und CFX-96 deep well	ja	
div	37		Gelelektrophorese	ja	

5.1.4 PCR: Senf

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD*	BG/ LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein	Methode
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
ASU	11	18.06.20	negativ		positiv		positiv		10			Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method
ASU	23	15.06.	positiv	-	negativ	-	positiv	-	4		25	Senf-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	35		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method
CEN	32		negativ		positiv		positiv		10			Senf-DNA	CEN/TS 15634-5:2016
GR	36	16.07.20	negativ		positiv		positiv		0,4			Senf-DNA	SPECIALfinder Assay, real time PCR, Generon
MS	4	06.07.20	negativ		positiv	10	positiv	10	10	10	45	Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden
SFA	3	25.06.20	negativ		positiv		positiv		0,4	1		Senf-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	5		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	Selection PCR-Methods
SFA	8	23.06.20	negativ		positiv		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	15		negativ		positiv		positiv		0,4			Senf-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	38	24.07.20	negativ	<1	positiv	58,02	positiv	8,59	1	1		Senf	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	21	29.06.20	negativ		positiv		positiv					Senf-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
div	10	07.07.20	negativ		positiv		positiv					Senf-DNA	andere: bitte eingeben!
div	19	01.08.20	positiv		positiv		negativ		0,008				Hausmethode
div	28a	27.07.20	negativ		positiv		positiv		5	nd		Bitte auswählen!	Fuchs M., Cichna-Markl M., Hochegger, R – Development and validation of a real-time PCR method for the detection of white mustard (Sinapis alba) in foods. J. Agric. Food Chemis. 2010, 58, 11193-11200.
div	28b	27.07.20	negativ		negativ		negativ		nd	nd		Bitte auswählen!	Palle-Reisch et al. - Development and validation of a real-time PCR methode for the simultaneous detection of black mustard (Brassica nigra) and brown mustard (Brassica juncea) - Food Chemistry 138 (2013) 348-355
div	33a	20.08.20	negativ		positiv	12	positiv	7			40	Senf	in house
div	33b	20.08.20	negativ		positiv	12	positiv	8			40	Senf	in house

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Senf:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	11		CTAB, Proteinase K / Promega Wizard DNA CleanUp / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L 08.00-65:2017-10
ASU	23	MADS-D-Gen	CTAB; Proteinase K; Chloroform; Clean-up: Dneasy Mericon Food Kit (Qiagen)	ja	
ASU	35		mod.	ja	
CEN	32		Extraktion durch PD CEN/TS 15634-5:2016 (CTAB) / Realtime PCR/ 40 Cyclen	nein	CEN/TS 15634-5:2016
GR	36		Extraktion> Nucleo Spin Food, Real Time PCRQuantStudio5. 7500 Fast und CFX-96 deep well	nein	
MS	4	Senf-DNA	Microsynth	ja	
SFA	3	Senf	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja	
SFA	5		CTAB Extraktion + CONGEN PCR		
SFA	8			ja	
SFA	15			ja	
SFA	38		Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
SFA-4p	21		SureFood Prep Advanced Protokoll 1	nein	
div	10	SinA1-Gen	Eigenes RT-qPCR System	Ja	
div	19			ja	
div	28a	MADS-D	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Cyclen	ja	
div	28b	Partielles RT Gen für Reverse Transcriptase aus gypsy-like Retroelement 13G42-26	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 43 Cyclen	nein	
div	33a	MADS-D Protein, Gypsy-like retro element	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2)
div	33b	internal transcribed spacer, Gypsy-like retro element	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2); Senf multicopy

5.1.5 PCR: Sesam

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG/ LOD*	BG/ LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein	Methode
			positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg	positiv/negativ	mg/kg					
			negativ		positiv		positiv		0,04			Sesam-DNA	PCR Test-Kit + Anbieter
ASU	1		negativ		positiv		positiv		0,04			Sesam-DNA	ASU §64 Methode/method
ASU	11	18.06.20	negativ		positiv		positiv		10			Bitte auswählen!	ASU §64 Methode/method
ASU	25	12.08.20	-	<2.5	-	9,4	-	15				Sesam	ASU §64 Methode/method
MS	4	06.07.20	negativ		positiv	10	positiv	40	10	10	44	Bitte auswählen!	Auswahl PCR-Methoden
SFA	3	26.06.20	negativ		positiv		positiv		0,4	1		Sesam-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	5		negativ		positiv		positiv					Bitte auswählen!	Selection PCR-Methods
SFA	15		negativ		positiv		positiv		0,4			Sesam-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	38	13.07.20	negativ	<1	positiv	175,73	positiv	72,39	1	1		Sesam	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	10	06.07.20	negativ		positiv		positiv					Sesam-DNA	andere: bitte eingeben!
div	19	01.08.20	negativ		positiv		positiv		0,008				Hausmethode
div	28	27.07.20	negativ		positiv		positiv		5	nd		Bitte auswählen!	Waiblinger H-U - Ring trial validation of single and multiplex real-time PCR methods for the detection and quantification of the allergenic food ingredients sesame, almond, lupine and Brazil nur - J. Verbr. Lebensm. - DOI 10,1007/s00003-014-0868-x
div	32		negativ		positiv		positiv		10			Sesam-DNA	LFOD-TST-SOP-8852
div	33	20.08.20	negativ		positiv	13	positiv	10		40		Sesam	in house
div	33	20.08.20	negativ		positiv	12	positiv	7		40		Sesam	in house
div	36	16.07.20	negativ		positiv		positiv		0,4			Sesam-DNA	LifePrint: detection of Sesame DNA

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze
 * LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation
 * MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	1			ja	
ASU	11		CTAB, Proteinase K / Promega Wizard DNA CleanUp / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	§64 LFGB L 08.00-19:2014-08
ASU	25				
MS	4	Sesam-DNA	Microsynth	ja	
SFA	3	Sesam	CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR	ja	
SFA	5		CTAB Extraktion + CONGEN PCR		
SFA	15			ja	
SFA-ID	38		Gemäß Kit-Anweisungen	nein	
div	10	Oleosin-Gen	Eigenes RT-qPCR System	Ja	
div	19			ja	
div	28	Albumine 2S	Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Cyclen	ja	
div	32		Extraktion durch ISO 21571:2005 (CTAB) / Realtime PCR/ 40 Cyclen	ja	LFOD-TST-SOP-8852
div	33	2s Albumin	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2)
div	33	interner transcribed Spacer	NucleoSpin Food Kit , Real Time PCR 45 Zyklen	ja	erweiterte MU (k=2); Sesam multicopy
div	36		Extraktion> Nucleo Spin Food, Real Time PCRQuantStudio5. 7500 Fast and CFX-96 deep well	nein	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL04 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	3,65	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	25,2	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	61	24,3
2	5,04	61	24,2
3	5,04	56	22,2
4	5,00	48	19,2
5	5,00	52	20,8
6	5,02	49	19,5
7	5,06	56	22,1
8	5,04	53	21,0

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	54,5	Partikel
Standardabweichung	4,80	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	2,96	
Wahrscheinlichkeit	89	%
Wiederfindungsrate	86	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	21,7	mg/kg
Standardabweichung	1,91	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,8	%
Horwitz Standardabweichung	10,1	%
HorRat-Wert	0,87	
Wiederfindungsrate	86	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL04 Dotierungs-nivauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,52	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	20,1	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	54	21,5
2	5,03	47	18,7
3	5,03	48	19,1
4	5,00	48	19,2
5	4,99	53	21,2
6	4,97	47	18,9
7	5,01	50	20,0
8	5,00	44	17,6

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	48,9	Partikel
Standardabweichung	3,28	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,54	
Wahrscheinlichkeit	98	%
Wiederfindungsrate	97	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	19,5	mg/kg
Standardabweichung	1,31	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,7	%
Horwitz Standardabweichung	10,2	%
HorRat-Wert	0,66	
Wiederfindungsrate	97	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL04 - 2020
EP-Name	Allergene IV: Sellerie, Senf und Sesam in Instant-Suppenpulver
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Tomatencremesuppe (Pulver)/ Zutaten: Tomatenpulver, Kartoffelmehl, Stärke, Zucker, Salz, Zwiebelpulver, Reismehl, Hefeextrakt, Maiskeimöl, Maltodextrin, Gewürze (Knoblauch, Pfeffer), Rote-Bete-Saftpulver/Randensaftpulver, Kräuter (Lorbeerblätter, Oregano), Aromen, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Sellerie, Senf, Sesam (Protein / DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg (als Lebensmittelzutat) Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg (als Lebensmittelzutat)
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	spätestens 21. August 2020
Auswertebereich	Der Auswertebereich wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Dr. Matthias Besler-Scharf

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		SPANIEN
		TSCHECHIEN
		GROSSBRITANNIEN
		SPANIEN
		USA
		SCHWEIZ
		Deutschland
		CANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		SPANIEN
		Deutschland
		FRANKREICH
		SCHWEDEN
		Deutschland
		ISRAEL
		SPANIEN
		SCHWEIZ
		SCHWEIZ
		FRANKREICH
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		CANADA
		CANADA
		ITALIEN
		GROSSBRITANNIEN
		SCOTLAND, UK
		FRANKREICH
		GROSSBRITANNIEN
		GROSSBRITANNIEN
		USA
		VIETNAM
		SPANIEN
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		CANADA

[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 inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 – 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 – 196 (2006)
12. AMC Kernel Density – Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. Codex Alimentarius Commission (2010) – Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
19. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by immunological methods – Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by molecular biological methods – Part 1: General considerations
21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel – Nachweis von Lebensmittelallergenen – Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs – Detection of food allergens – General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a

- collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
 30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
 31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
 32. ASU §64 LFGB L 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of sesame (Sesamum indicum) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 33. 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]
 34. 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]
 35. ASU §64 LFGB L 08.00-64 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von von schwarzem Senf (Brassica nigra L.) und braunem Senf (Brassica juncea L.) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.) and brown mustard (Brassica juncea L.) in boiled sausages by real-time PCR]
 36. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]

DLA ptAL04 (2020) - Allergene IV

Alle 39 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte für ELISA-Methoden hinsichtlich der Parameter Senf und Sesam qualitativ und quantitativ und für Sellerie lagen keine Ergebnisse vor. Die PCR-Methoden wurden für alle 3 Parameter qualitativ bewertet. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten inklusive z-Scores für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

30 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Ausland (Frankreich, Großbritannien, Italien, Schweden, Schweiz, Spanien, Tschechien sowie Israel, Kanada, USA und Vietnam).