



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA ptAL07 (2020)**

**Allergene VII:**

**Crustaceae, Erdnuss und Kokosnuss**

**in Instantprodukt (Asiatische Nudelsuppe)**

***DLA - Proficiency Tests GmbH***

*Hauptstr. 80*

*23845 Oering/Germany*

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

*Coordinator der LVU:*

*Dr. Matthias Besler-Scharf*

**1. Korrektur 28.04.2021:**

Bezüglich der Auswertung der ELISA-Ergebnisse für Crustaceae sind die Ergebnisse von Teilnehmer 13 und 14 nicht bzw. falsch von DLA in Crustaceae-Protein umgerechnet worden. Diese Fehler wurden auf den Seiten 21 bis 28 korrigiert. Die Bewertungen anderer Teilnehmer-Ergebnisse sind von den Korrekturen nicht betroffen.

Auf Seite 25 wurden für die Dotierungsniveauprobe die falschen Ergebnisse (von Probe B) angegeben. Dies wurde korrigiert.

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b> Hauptstr. 80, 23845 Oering, Germany  Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.  Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA ptAL07 (2020)
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report (28. April 2021) 1. Korrektur / 1st Correction 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.
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	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: 28. April 2021
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	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
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	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.

## 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 Crustaceae.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Crustaceae (Gesamtprotein).....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Crustaceae (frisch).....	29
4.2 Vergleichsuntersuchung Erdnuss.....	32
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss.....	32
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss.....	42
4.3 Vergleichsuntersuchung Kokosnuss.....	45
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Kokosnuss (als Kokosnussmehl).....	45
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Kokosnuss.....	53
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	56
5. Dokumentation.....	58
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	58
5.1.1 ELISA: Crustaceae.....	58
5.1.2 ELISA: Erdnuss.....	60
5.1.3 ELISA: Kokosnuss.....	62
5.1.4 PCR: Crustaceae.....	63
5.1.5 PCR: Erdnuss.....	64
5.1.6 PCR: Kokosnuss.....	64
5.2 Homogenität.....	65
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	65
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	66
6. Verzeichnis der Teilnehmer.....	67
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	68

## 1. Einleitung

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

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um eine handelsübliche Instant-Nudelsuppe. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Crustaceae, Erdnuss und Kokosmehl enthalten, wurden zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 4 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
<b>Asiatische Instant-Nudelsuppe</b> Zutaten: Nudeln 89% (Weizenmehl, Kartoffelstärke, Palmöl, Salz, Säureregulatoren: E501, E500, E339, Antioxidationsmittel E306, Emulgator E322, Würzmittel), Gewürzpulver 9% (hydrolysiertes pflanzliches Eiweiß, Maltodextrin, Hefeextrakt, Salz, Weizenmehl, schwarzer Pfeffer, rote Chillischoten, Knoblauch, Maismehl), Gemüse-Pilz-Flocken 2% (Pak Choi, Shitake, texturiertes pflanzliches Eiweiß, Karotten, rote Chillischoten, Zwiebeln) Nährstoffe pro 100 g: Fett 13 g, Kohlenhydrate 68 g, Protein 8,2 g, Salz 3,8 g	100 g/100 g	99,9 g/100g	
<b>Kartoffelpulver</b> Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100 g
<b>Erdnüsse, geröstet</b> gemahlen, Mischung (18 Produkte aus den USA, von Asien, Afrika, Südamerika) - als Erdnuss* - davon 23,2% Gesamtprotein**	-	12,9 mg/kg 2,99 mg/kg	15,1 mg/kg 3,50 mg/kg
<b>Kokosnussmehl:</b> - als Kokosnussmehl* - davon 17% Gesamtprotein**	-	82,9 mg/kg 14,1 mg/kg	81,2 mg/kg 13,8 mg/kg
<b>King Prawns, gefrieretrocknet</b> - als King Prawns, frisch* - als King Prawns, gefriergetr.* - davon 87,0% Gesamtprotein**	-	242 mg/kg 52,3 mg/kg 45,4 mg/kg	231 mg/kg 50,9 mg/kg 43,4 mg/kg
<b>weitere Zutaten:</b> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid	-	<0,02 g/100 g	<0,02 g/100 g

\*Allergen-Gehalte als „Lebensmittel“ wie in Spalte Zutaten angegeben gemäß gravimetrischer Mischung; das Frischgewicht von King Prawns wurde mit einer Trockenmasse von 21,6% (USDA Crustaceae) berechnet

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,25 für Kokos und King Prawns und F=5,46 für Erdnuss)

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

### 2.1.1 Homogenität

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

Die Microtracer-Analyse hat für Probe B und der Dotierungsniveauprobewahrscheinlichkeiten von 88% bzw. 92% 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 0,93 bzw. 0,89 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

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

#### Durchführung der Homogenitätstests

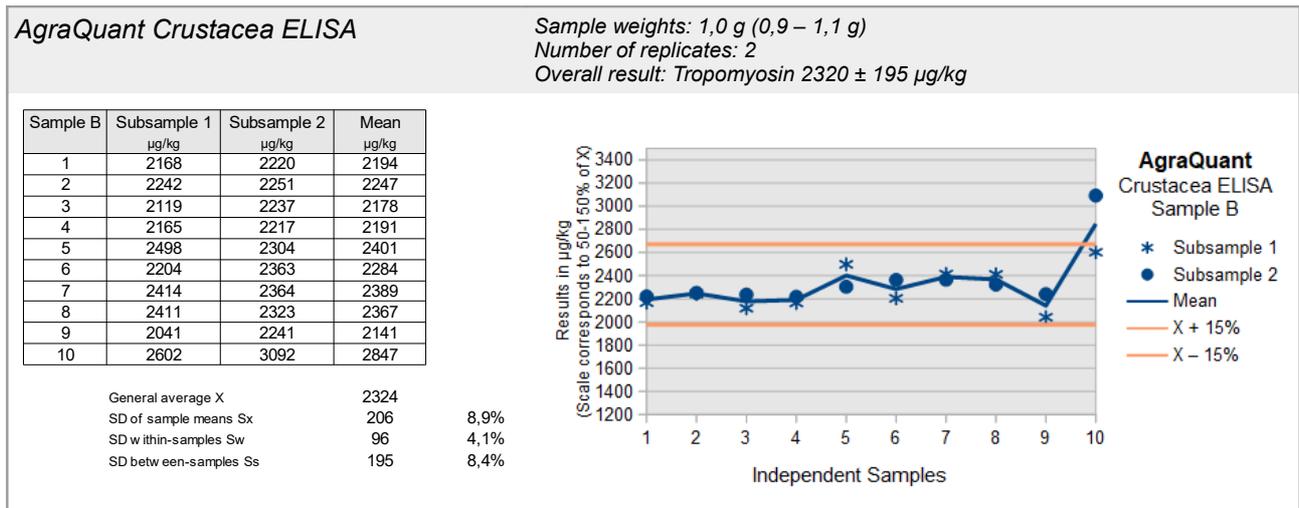
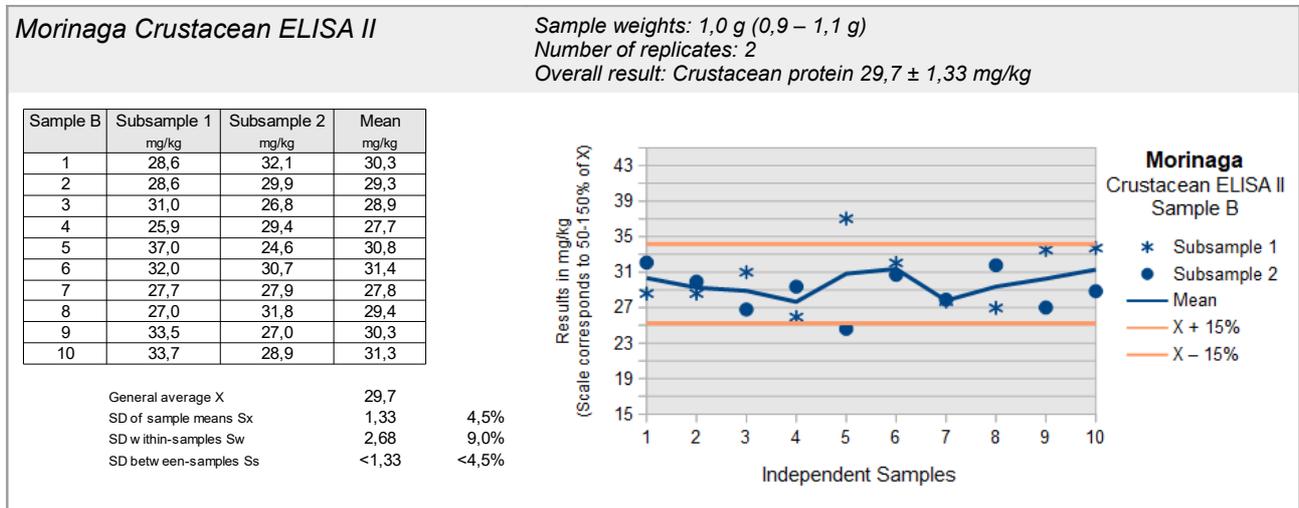
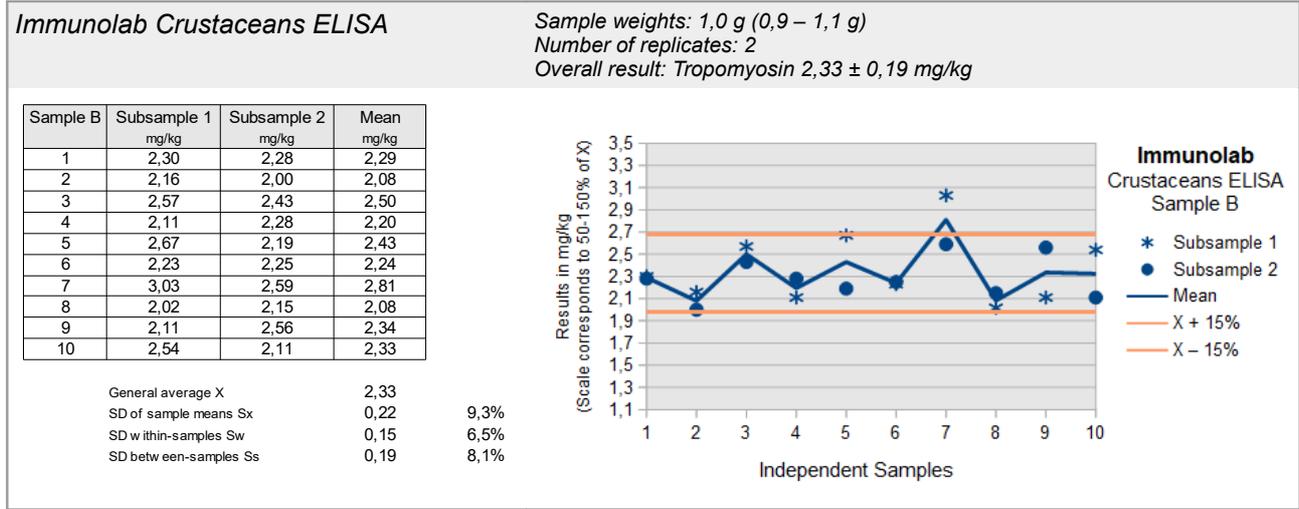
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-coodierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors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

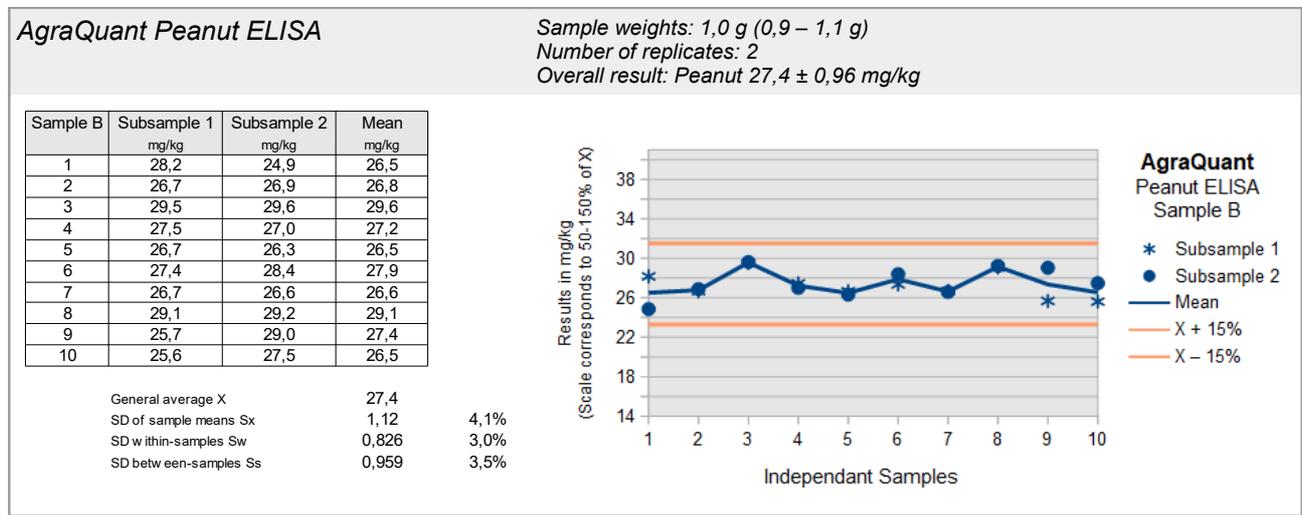
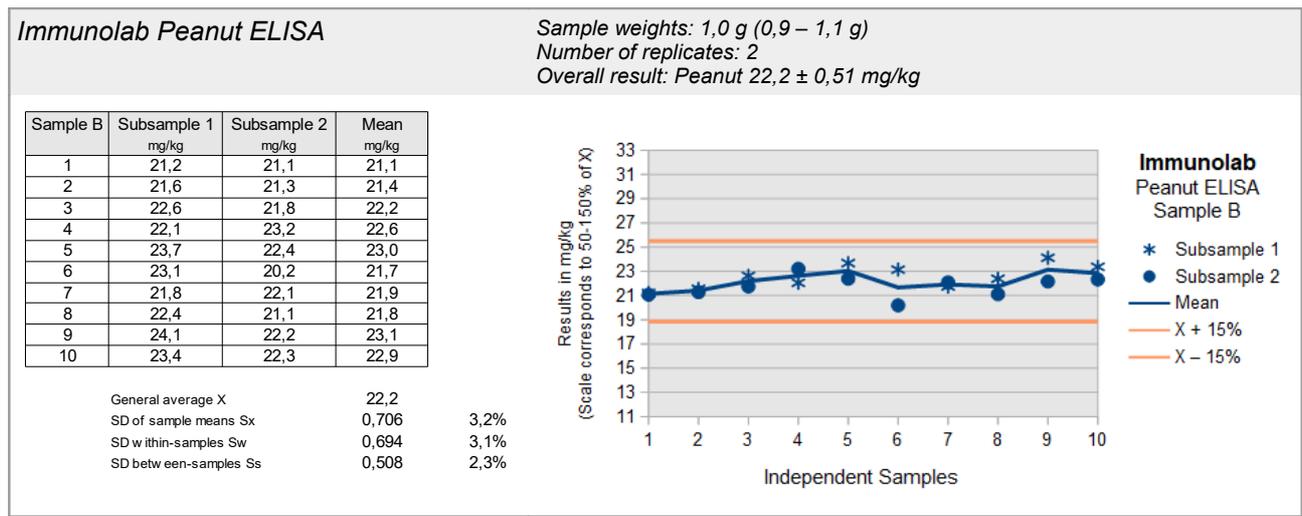
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von  $S_s \leq 15\%$  („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe B in allen ELISA-Tests für Crustaceae (Immunolab, Morinaga und AgraQuant) sowie Erdnuss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



**ELISA-Tests: Homogenität Erdnuss / Homogeneity Peanut**



### 2.1.2 Stabilität

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

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

Die  $a_w$ -Werte der Probe B und der Dotierungsniveauprobe lagen bei ca.  $0,40$  und  $0,41$  ( $18^\circ\text{C}$ ). 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 45. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 8. Januar 2021.

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 Crustaceae, Erdnuss und Kokosnuss im mg/kg Bereich in der Matrix asiatische Suppe (Instantprodukt). 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 5.4 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 22 Teilnehmer haben ihre Ergebnisse fristgerecht abgegeben.

### 3. Auswertung

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

### 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

### 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

#### 3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

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

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

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

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

#### 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

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

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

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

$\sigma_{pt}$ .

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

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

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 12 – 33% für die ELISA-Methoden und 18 – 42% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

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

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD	$RSD_r$	$RSD_R$	$\sigma_{pt}$	Methode / Literatur
Erdnuss	Reiskekse	23,4 5,19	113 % 99,7 %	15,6% 15,0%	11,6% 14,7%	14,4% 18,1%	11,8% 14,8%	rt-PCR ASU 00.00-169
Erdnuss	Weizenkekse (DLA)	1,97	39,3 %	16,2%	16,0%	19,5%	15,8%	rt-PCR ASU 00.00-169
Erdnuss	Milchpulver Brühwurst	3,66 2,44	73,2 % 49,4 %	15,8% 15,6%	12,8% 11,9%	14,8% 15,9%	11,7% 13,5%	rt-PCR ASU 00.00-169
Mandel	Reiskekse	105,2 18,0 10,5	105 % 90 % 105 %	–	19,3% 44,0% 32,0%	27,5% 49,1% 38,8%	23,9% 38,0% 31,5%	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	114,3 88,1	94,6 % 88,1 %	–	22,1% 43,9%	41,8% 43,1%	38,8% – %	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Reiskekse	109 21,3 12,3	109 % 107 % 121 %	–	17,6% 35,8% 32,0%	32,8% 45,0% 47,8%	30,3% 37,2% 42,1%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	120,7 112	98,2 % 94,1 %	–	15,7% 36,2%	32,5% 42,8%	30,5% 34,3%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Reiskekse	89,1 17,3 9,8	89,1 % 86,5 % 98 %	–	34,1% 36,2% 40,2%	34,4% 38,2% 41,8%	24,5% 28,4% 30,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	80,8 42,6	65,7 % 42,6 %	–	25,6% 27,5%	36,4% 39,7%	31,6% 34,6%	rt-PCR ASU 18.00-21
Paranuss	Reiskekse	96,6 14,2	96,6 % 71 %	–	16,8% 54,2%	31,8% 56,5%	29,5% 41,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22
Paranuss	Weizenkekse Soßenpulver	76,5 48,4	62,2 % 48,4 %	–	15,6% 34,4%	35,8% 37,5%	34,1% 28,5%	rt-PCR multiplex ASU 18.00-22

### 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

<b>Literatur</b> [18]	<b>Wiederfindungsrate</b>	<b>Wiederholstandardabweichung</b>	<b>Vergleichsstandardabweichung</b>
CAC 2010	± 25% <sup>(a)</sup>	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir für die relative Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  einen Wert von 25% fest.

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

### 3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

- i) **z-Score** - **z<sub>ALL</sub>** (bezogen auf alle Ergebnisse)
- ii) **z-Score** - **z<sub>METHOD i</sub>** (bezogen auf Einzelmethode*n*)

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

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

### **3.6 z'-Score**

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

### **3.7 Quotient S\*/ $\sigma_{pt}$**

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

### **3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit**

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

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

Ist  $U_{(x_{pt})} \leq 0,3 \sigma_{pt}$  muss die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes nicht berücksichtigt werden [3]. Ein deutliches Überschreiten des Wertes

von 0,3 ist ein Hinweis darauf, dass die Zielstandardabweichung ggf. zu gering für die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes gewählt wurde.

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

### **3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte**

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

### **3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung**

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

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 **Erdnussprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe (vgl. S. 5) auf das **Gesamtlebensmittel (Erdnuss)** umgerechnet worden.

Die ELISA-Ergebnisse für **Crustaceae** wurden als Crustaceae-Protein ausgewertet.

Je nach verwendeten Test-Kits wurden Ergebnisse, die sich auf das Frischgewicht bezogen, direkt in Crustaceae-Protein umgerechnet (Testkit Manual: Ridascreen mit 20% Protein, Handbuch: Veratox mit 22,78% Protein) oder zunächst in Crustaceae, getrocknet, umgerechnet (AgraQuant, Bio-Front). Im letzteren Fall wurde eine Trockenmasse von 21,6% (Literatur: Crustacean, Shrimps roh, FoodData Central, USDA 2021) zugrunde gelegt und mittels dem experimentell bestimmten Proteingehalt von 87% in der Trockenmasse umgerechnet (s. Seite 5).

Ergebnisse, die als Crustaceae, getrocknet angegeben wurden (Ridascreen), wurden ebenfalls mittels dem experimentell bestimmten Proteingehalt von 87% umgerechnet (s. Seite 5).

ELISA-Ergebnisse, die als Tropomyosin angegeben wurden, wurden in Gesamtprotein umgerechnet, hierzu wurde die Herstellerangabe von 20% Tropomyosin in Gesamtprotein verwendet (AgraQuant, Immunolab, Eurofins).

ELISA-Ergebnisse für **Kokosnuss**, die als frisch angegeben (ELISA Immunolab) oder gemäß der Herstellerangaben als solche angegeben wurden, (Kokosnuss = Frischgewicht Kokosnuss, persönliche Kommunikation) (Immunolab), wurden in Kokosnussmehl umgerechnet. Die Umrechnung fand auf Basis der Trockenmasse von 55,2% statt (food composition and nutrition tables Souci, Fachmann, Kraut).

Die **PCR-Ergebnisse** für Crustaceae wurden als Frischgewicht ausgewertet. Zur Berechnung der Wiederfindungsraten wurde der Gehalt an King Prawns

mit einer Trockenmasse von 21,6% (Literatur: Crustacean, Shrimps roh, FoodData Central, USDA 2021) in Frischgewicht umgerechnet. Qualitativ werden die Ergebnisse anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern  $\geq 75\%$  positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt. Für jeden Teilnehmer wird in Bezug auf die Konsens-Ergebnisse eine qualitative Bewertung vorgenommen. Hier wurde die Übereinstimmung mit den Konsens-Werten in Prozent angegeben. Gegebenenfalls werden anschließend die Ergebnisse aller Methoden und von Einzelmethoden mit mindestens 5 quantitativen Ergebnissen statistisch ausgewertet.

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

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

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode i [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD i}}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Mittelwert		
Median		
Robuster Mittelwert ( $X_{pt}$ )		
Robuste Standardabweichung ( $S^*$ )		
Zielkenndaten°:		
Zielstandardabweichung $\sigma_{pt}$ bzw. $\sigma_{pt}'$		
untere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} - 2\sigma_{pt}$ ) bzw. ( $X_{pt} - 2\sigma_{pt}'$ )°		
obere Grenze des Zielbereichs ( $X_{pt} + 2\sigma_{pt}$ ) bzw. ( $X_{pt} + 2\sigma_{pt}'$ )°		
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$ bzw. $S^*/\sigma_{pt}'$		
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

° 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 Crustaceae

### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Crustaceae (Gesamtprotein)

#### 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		
10	negativ	<0,1	positiv	16,3	2/2 (100%)	AQ	
16	negativ	<0,2	positiv	9,09	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	<0,02	positiv	1,75	2/2 (100%)	AQ	
20	negativ	<LOD	positiv	0,624	2/2 (100%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	AS	Ergebnis umgerechnet °
4	negativ	<0,19	positiv	>7,5	2/2 (100%)	BF	Ergebnis umgerechnet °
22	negativ	0	positiv	139	2/2 (100%)	BF	
12	negativ	<0,25	positiv	3,98	2/2 (100%)	ES	Ergebnis umgerechnet °
3	negativ		positiv	9,85	2/2 (100%)	IL	
7	negativ	<20	positiv	435	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
8	negativ	<17	positiv	122	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<20	positiv	77,7	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
14	negativ	<4,3	positiv	98,0	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
5	negativ	<0,1	positiv	10,0	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
15	negativ	<0,005	positiv	14,5	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
21	negativ	0	positiv	13,0	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
2	negativ	<0,57	positiv	5,47	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° calculation see p. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	17
Anzahl negativ	17	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

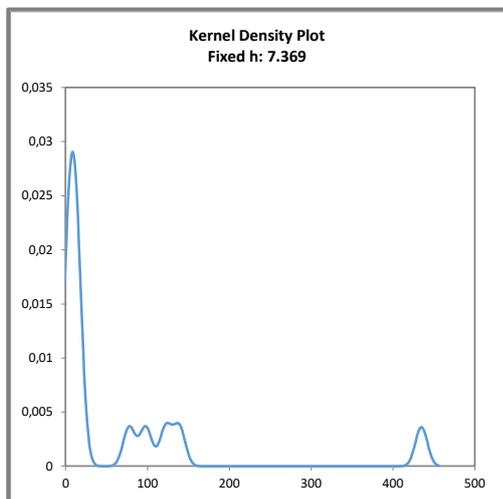
AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 AS = AgraStrip (Lateral Flow), RomerLabs  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 ES = ELISA-Systems  
 IL = Immunolab  
 RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

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

**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

*Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde keine statistische Auswertung mit z-Scores vorgenommen.*

**Abb. / Fig. 1:**

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

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

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Maximum  $< 50$  mg/kg für die Ergebnisse von 5 Methoden (Methoden AQ, ES, IL, SP, VT), die Ergebnisse  $> 50$ mg/kg wurden mit 2 anderen Methoden erhalten (BF, RS-F) (s. Abb. 1).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Crustaceae (Gesamtprotein)

*Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde keine statistische Auswertung mit z-Scores vorgenommen.*

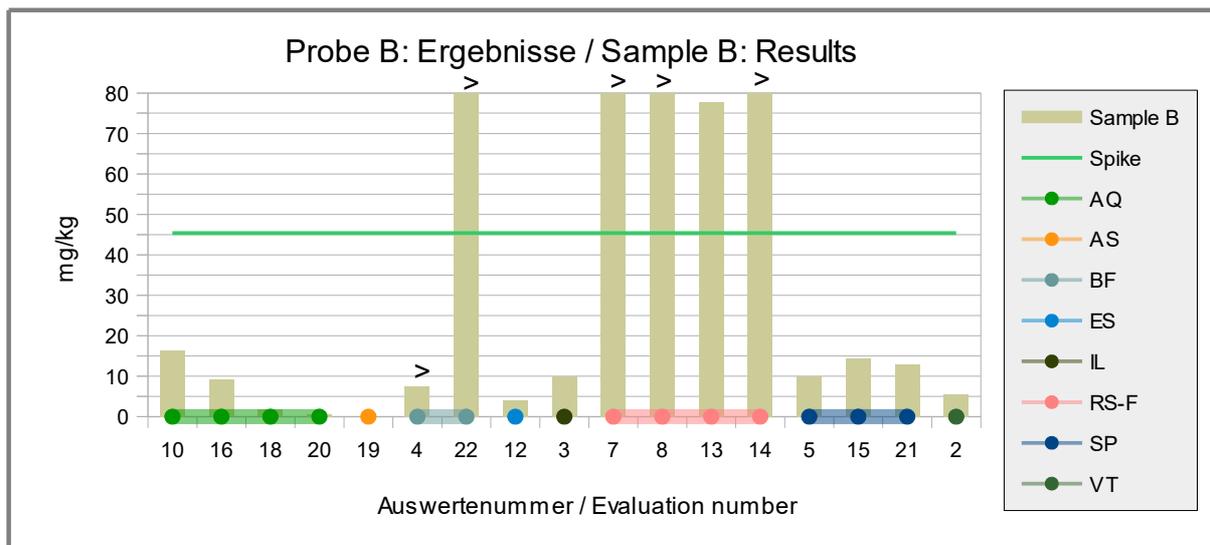
### Probe B

<b>Kenndaten</b>	<b>Ergebnisse &lt;50</b> [mg/kg]	<b>Ergebnisse &gt;50</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL<50}$	$X_{pt}_{ALL>50}$
Anzahl der Messergebnisse	10	5
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	8,46	174
Median	9,47	122
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	8,46	133
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	6,08	66,5
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>		
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>		
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>		
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>		
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>		
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>		
<i>Prozent im Zielbereich</i>		

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

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Maximum < 50 mg/kg für die Ergebnisse von 5 Methoden (Methoden AQ, ES, IL, SP, VT), die anderen Ergebnisse > 50mg/kg wurden mit 2 anderen Methoden erhalten (BF, RS-F) (s. Abb. 1). Eine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller verschiedener Methoden war nicht möglich. Wegen der geringen Anzahl an Ergebnissen wurde keine Auswertung für Einzelmethode durchgeführt.

Die jeweiligen quantitativen Einzelergebnisse wurden im Vergleich zum Dotierungsniveau zur Information ausgewertet (s. "Wiederfindungsraten mit z-scores ELISA für Crustaceae (Gesamtprotein)" p. 28).



**Abb./Fig. 2:** ELISA-Ergebnisse *Crustaceae* (Gesamtprotein)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

*Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde keine statistische Auswertung mit z-Scores vorgenommen.*

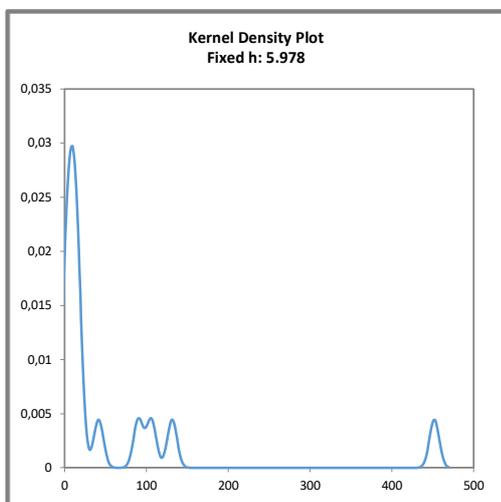
Auswertenummer	Crustaceae protein pos/neg	Crustaceae protein [mg/kg]	z-Score $X_{pt,ALL}$	Methode	Hinweis
10	positiv	15,5		AQ	
16	positiv	10,2		AQ	
18	positiv	1,45		AQ	
20	positiv	0,770		AQ	Ergebnis umgerechnet °
19	positiv			AS	Ergebnis umgerechnet °
4	positiv	>7,5		BF	Ergebnis umgerechnet °
22	positiv	41,5		BF	
12	positiv	2,65		ES	Ergebnis umgerechnet °
3	positiv	10,4		IL	
7	positiv	452		RS-F	Ergebnis umgerechnet °
8	positiv	131		RS-F	
13	positiv	90,1		RS-F	Ergebnis umgerechnet °
14	positiv	106		RS-F	Ergebnis umgerechnet °
5	positiv	9,5		SP	Ergebnis umgerechnet °
15	positiv	14,5		SP	Ergebnis umgerechnet °
21	positiv	18		SP	Ergebnis umgerechnet °
2	positiv	5,10		VT	Ergebnis umgerechnet °

° Rechnung s. S. 19

Anzahl positiv	17	
Anzahl negativ	0	
Prozent positiv	100	
Prozent negativ	0	
Konsenswert	positiv	

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- AS = AgraStrip (Lateral Flow), RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES = ELISA-Systems
- IL = Immunolab
- 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 eine inkonsistente Verteilung der Ergebnisse (siehe auch Abb. 2).

Kenndaten: Quantitative Auswertung Crustaceae (Gesamtprotein)

*Hinweis: Aufgrund der Heterogenität der quantitativen Ergebnisse und der geringen Anzahl von Ergebnissen von Einzel-Methoden wurde keine statistische Auswertung mit z-Scores vorgenommen.*

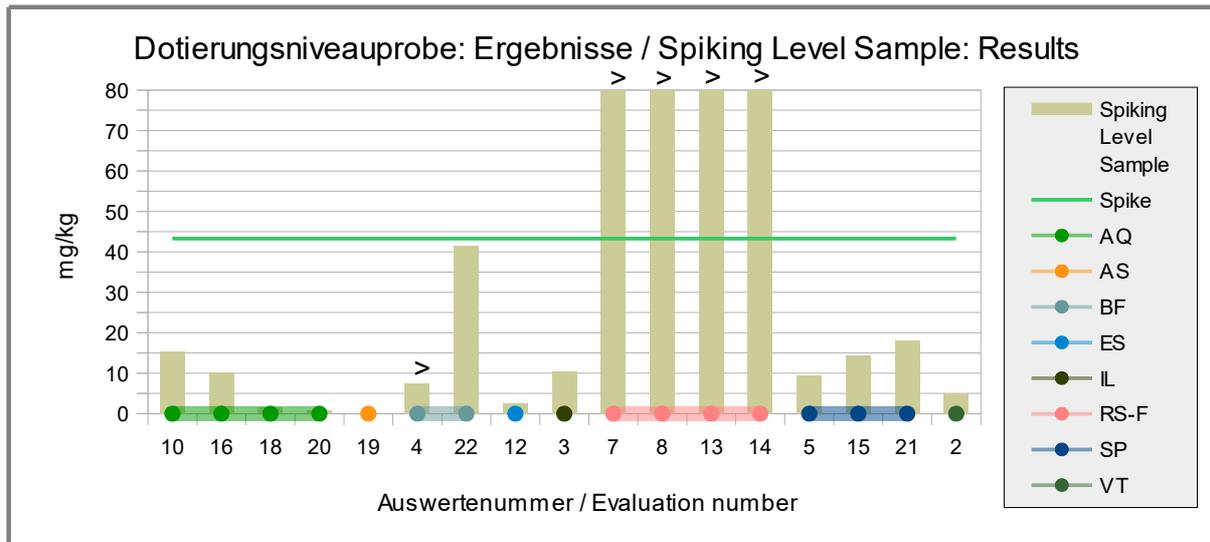
### Dotierungsniveauprobe

<b>Kenndaten</b>	<b>Ergebnisse &lt;40</b> [mg/kg]	<b>Ergebnisse &gt;40</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL<40}$	$X_{pt}_{ALL>40}$
Anzahl der Messergebnisse	10	5
Anzahl der Ausreißer	-	-
Mittelwert	8,81	164
Median	9,85	106
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	8,81	125
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	6,94	89,9
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>		
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>		
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>		
<i>Quotient <math>S^*/\sigma_{pt}</math></i>		
<i>Standardunsicherheit <math>U(X_{pt})</math></i>		
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>		
<i>Prozent im Zielbereich</i>		

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

Die Kerndichte-Schätzung zeigt ein Maximum < 40 mg/kg für die Ergebnisse von 5 Methoden (Methoden AQ, ES, IL, SP, VT), die anderen Ergebnisse > 40mg/kg wurden mit 2 anderen Methoden erhalten (BF, RS-F) (s. Abb. 1). Eine gemeinsame Auswertung der Ergebnisse aller verschiedener Methoden war nicht möglich. Wegen der geringen Anzahl an Ergebnissen wurde keine Auswertung für Einzelmethoden durchgeführt.

Die jeweiligen quantitativen Einzelergebnisse wurden im Vergleich zum Dotierungsniveau zur Information ausgewertet (s. "Wiederfindungsraten mit z-scores ELISA für Crustaceae (Gesamtprotein)" p. 28).



**Abb./Fig. 4:** ELISA-Ergebnisse *Crustaceae* (Gesamtprotein)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-score ELISA für Crustaceae (als Gesamtprotein): Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Evaluation number	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		
10	15,5	36	-2,6	16,3	36	-2,6	AQ	
16	10,2	24	-3,1	9,09	20	-3,2	AQ	
18	1,45	3,3	-3,9	1,75	3,9	-3,8	AQ	
20	0,770	1,8	-3,9	0,624	1,4	-3,9	AQ	Ergebnis umgerechnet °
19							AS	
4	>7,5			>7,5			BF	Ergebnis umgerechnet °
22	41,5	<b>96</b>	-0,17	139	306	8,2	BF	
12	2,65	6	-3,8	3,98	8,8	-3,6	ES	Ergebnis umgerechnet °
3	10,4	24	-3,0	9,85	22	-3,1	IL	
7	452	1044	38	435	958	34	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
8	131	304	8,1	122	270	6,8	RS-F	
13	90,1	208	4,3	77,7	171	2,8	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
14	106	245	5,8	98,0	216	4,6	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
5	9,5	22	-3,1	10,0	22	-3,1	SP	Ergebnis umgerechnet °
15	14,5	33	-2,7	14,5	32	-2,7	SP	Ergebnis umgerechnet °
21	18	42	-2,3	13,0	29	-2,9	SP	Ergebnis umgerechnet °
2	5,10	12	-3,5	5,47	12	-3,5	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung s. S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>1</b>	Anzahl im AB	<b>0</b>
Prozent im AB	<b>7</b>	Prozent im AB	<b>0</b>

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: King prawns-Protein, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- AS = AgraStrip (Lateral Flow), RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- ES = ELISA-Systeme
- IL = Immunolab
- RS-F = Ridascree® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Mit einer Ausnahme hat keiner der Teilnehmer sowohl für die Dotierungsniveauprobe als auch für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Die Wiederfindungsraten können in zwei Gruppen eingeteilt werden; unterhalb von 50% und oberhalb von 150%.

Hinweis: In Bezug auf die Wiederfindungsraten von ELISA-Methoden zur Bestimmung von Crustaceae müssen für einige Methoden spezielle Umrechnungsfaktoren für bestimmte Crustaceae-Arten berücksichtigt werden (z. B. Methoden: AQ, IL, SP). Diese Faktoren wurden im vorliegenden Abschnitt für die Bestimmung von Riesengarnelen, die in den PT-Proben enthalten sind, nicht berücksichtigt.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Crustaceae (frisch)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
4	negativ	<0,4	positiv		2/2 (100%)	SFA	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
13	negativ	<1	positiv	356	2/2 (100%)	SFA	
17	negativ		positiv		2/2 (100%)	SFA	
1	negativ		positiv	1500	2/2 (100%)	div	
19	negativ		positiv		2/2 (100%)	div	

° Umrechnung s. S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	6
Anzahl negativ	6	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

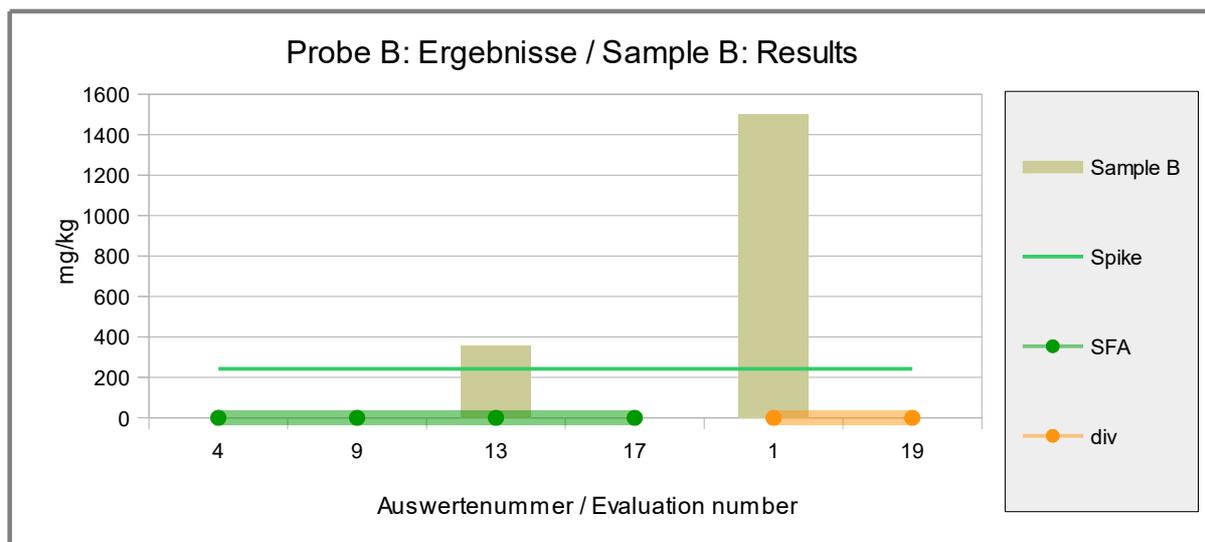


Abb./Fig. 5: PCR-Ergebnisse Crustaceae (frisch)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Crustaceae pos/neg	Crustaceae [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	Methode	Hinweis
4	positiv			SFA	
9	positiv			SFA	
13	positiv	530		SFA	
17	positiv			SFA	
1	positiv	7000		div	
19	positiv			div	

° Umrechnung s. S. 19

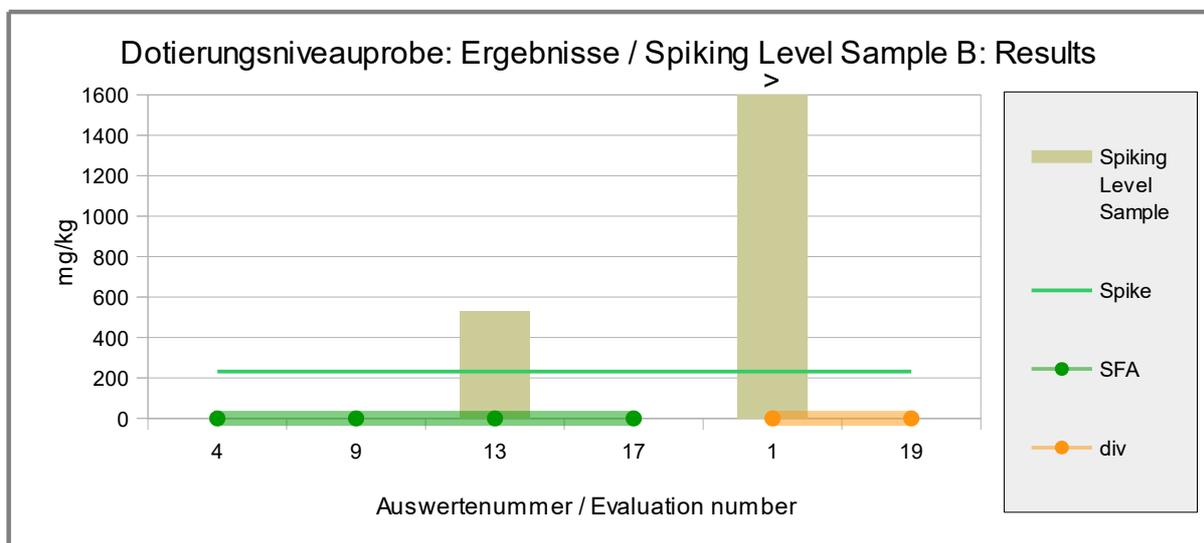
**Methoden:**

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

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

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



**Abb./Fig. 6:** PCR-Ergebnisse Crustaceae (frisch)  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Crustaceae (frisch):  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweise
	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		
4							SFA	
9							SFA	
13	530	229	5,2	356	154	2,2	SFA	
17							SFA	
1	7000	3030	117	1500	649	22	div	
19							div	

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

**Methoden:**

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Crustaceae, frisch

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Zwei Teilnehmer übermittelten quantitative PCR-Ergebnisse. Jeweils beide Ergebnisse für die Dotierungsniveauprobe und Probe B lagen oberhalb des Bereichs der AOAC-Anforderung von 50-150%.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Erdnuss

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Erdnuss

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

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
11	negativ	< 1,00	positiv	27,9	2/2 (100%)	AQ	
16	negativ	<1	positiv	31,3	2/2 (100%)	AQ	
18	negativ	<1	positiv	34,2	2/2 (100%)	AQ	
20	negativ	<LOD	positiv	30,5	2/2 (100%)	AQ	
22	negativ	0	positiv	58,0	2/2 (100%)	BF	
19	negativ	<NG	positiv	17,0	2/2 (100%)	IFP	
3	negativ		positiv	26,4	2/2 (100%)	IL	
17	negativ		positiv	294	2/2 (100%)	IL	
5	negativ	<0,9	positiv	18,5	2/2 (100%)	MI	Ergebnis umgerechnet °
6	negativ	<2,5	positiv	38,2	2/2 (100%)	RS	
7	negativ	<2,5	positiv	28,8	2/2 (100%)	RS-F	
9	negativ		positiv	33,0	2/2 (100%)	RS-F	
12	negativ	<2,5	positiv	21,0	2/2 (100%)	RS-F	
13	negativ	<1	positiv	27,4	2/2 (100%)	RS-F	
14	negativ	<2,5	positiv	28,0	2/2 (100%)	RS-F	
21	negativ	0	positiv	19,0	2/2 (100%)	SP	

° Umrechnung s. S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	16
Anzahl negativ	16	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 IFP = ELISA-Fast, ifp  
 IL = Immunolab  
 RS = Ridascreen®, R-Biopharm  
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

#### Anmerkung:

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

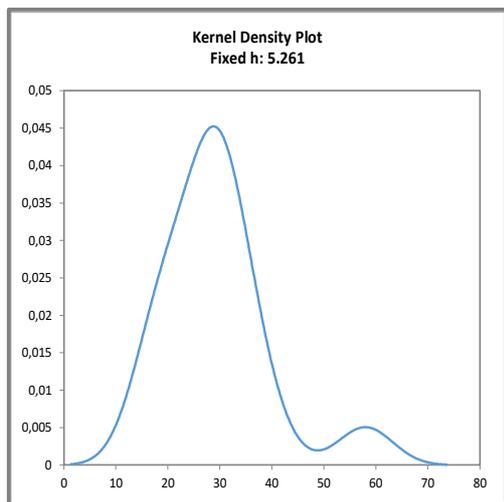
**Quantitative valuation of ELISA-results: Sample B**

Auswertenummer	Erdnuss	z-Score X <sub>pt</sub> ALL	z-Score X <sub>pt</sub> RS-F	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
11	27,9	-0,03		AQ	
16	31,3	0,46		AQ	
18	34,2	0,87		AQ	
20	30,5	0,35		AQ	
22	58,0	4,3		BF	
19	17,0	-1,6		IFP	
3	26,4	-0,24		IL	
17	294	38		IL	Ausreißer ausgeschlossen
5	18,5	-1,4		MI	Ergebnis umgerechnet*
6	38,2	1,4		RS	
7	28,8	0,11	0,17	RS-F	
9	33,0	0,70	0,78	RS-F	
12	21,0	-1,0	-0,96	RS-F	
13	27,4	-0,10	-0,04	RS-F	
14	28,0	-0,01	0,05	RS-F	
21	19,0	-1,3		SP	

\* Umrechnung s. S. 19

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- IFP = ELISA-Fast, ifp
- IL = Immunolab
- RS = Ridascree®n, R-Biopharm
- RS-F= Ridascree®n Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins



**Abb. / Fig. 7:**

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

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

**Anmerkung:**

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine annähernd symmetrische Verteilung der Ergebnisse bei 30 mg/kg mit einem kleinen Nebenpeak bei 58 mg/kg wegen eines Ergebnisses außerhalb des Zielbereich (Ausreißer bei ca. 300 mg/kg nicht dargestellt).

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

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]	<b>Methode RS-F</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$	$X_{pt\_METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	15 <sup>°</sup>	5
Anzahl der Ausreißer	1	0
Mittelwert	29,3	27,6
Median	28,0	28,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>28,1</b>	<b>27,6</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>7,83</b>	<b>4,89</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>7,01</b>	<b>6,91</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>14,0</b>	<b>13,8</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>42,1</b>	<b>41,5</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,1	0,71
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,53	2,73
Ergebnisse im Zielbereich	14	5
Prozent im Zielbereich	93	100

<sup>°</sup> ohne Ergebnis Nr. 17 (Ausreißer ausgeschlossen)

**Methode:**

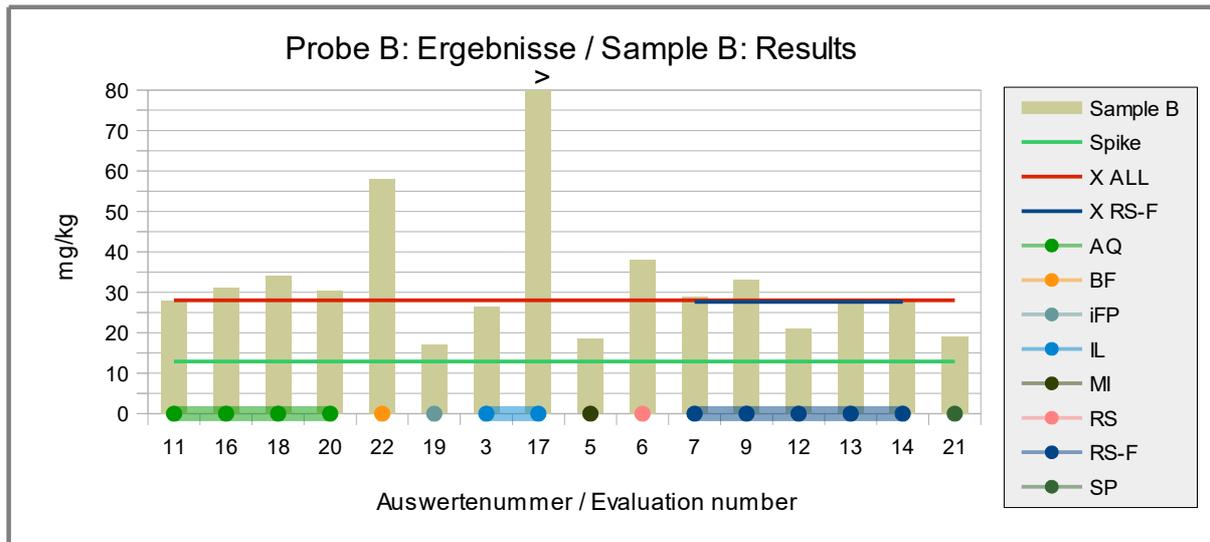
RS-F = Ridascreen® Fast, B-Biopharm

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

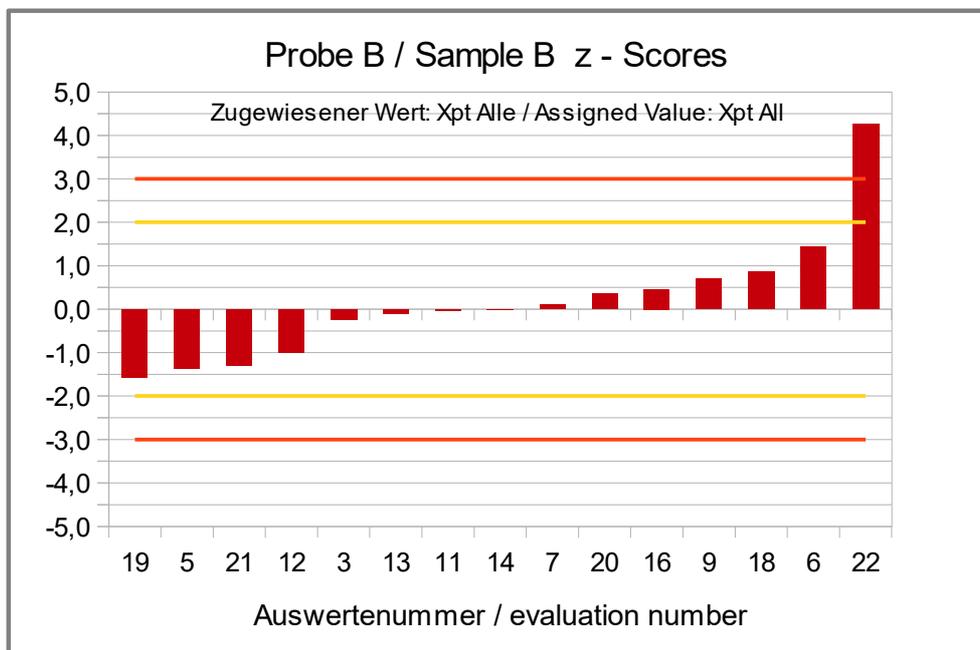
Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden und Methode RS-F zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die Methoden übergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

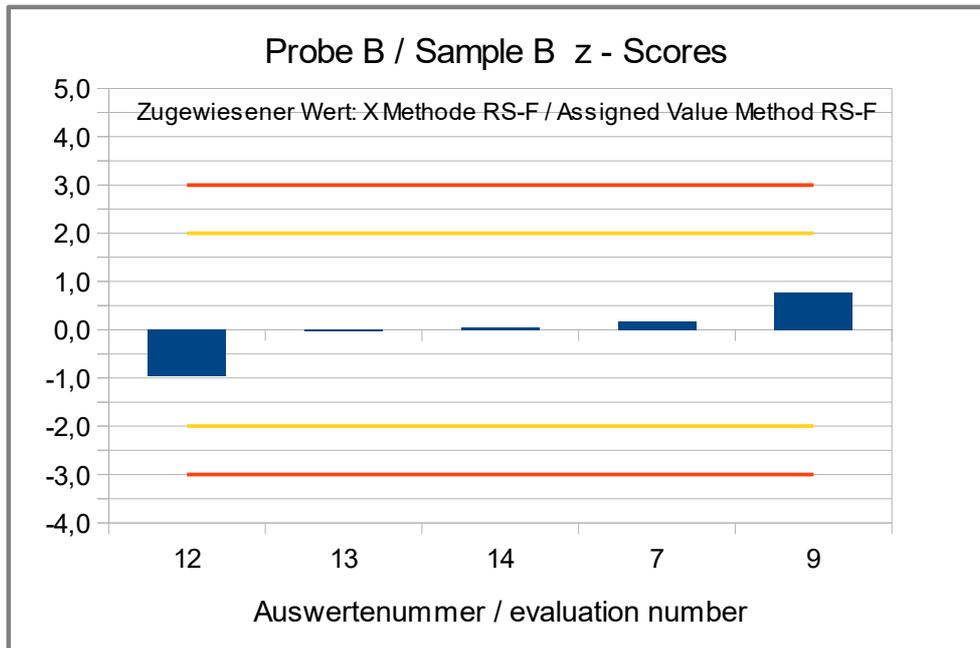
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 218% bzw. 214% vom Zusatzniveau von Erdnuss zu Probe B oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.43 "Wiederfindungsraten für Erdnuss").



**Abb./Fig. 8:** ELISA-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert der Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 9:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Erdnuss)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 10:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Erdnuss)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert der Methode RS-F (R-Biopharm, Ri-dascreen® Fast)

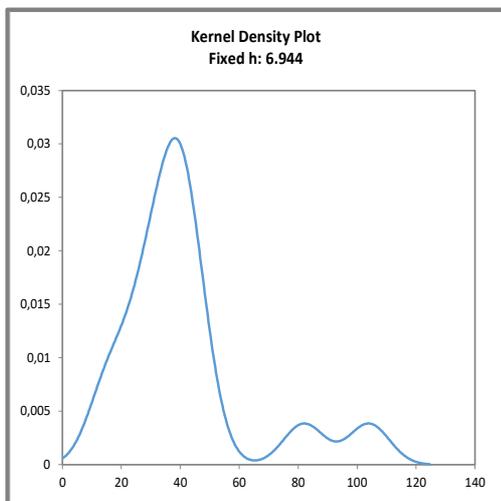
**Quantitative valuation of ELISA-results: Spiking Level Sample**

Auswertenummer	Erdnuss	Erdnuss	z-Score X <sub>ptALL</sub>	z-Score X <sub>ptRS</sub>	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				
11	positiv	38,8	0,19		AQ	
16	positiv	47,5	1,1		AQ	
18	positiv	41,9	0,53		AQ	
20	positiv	41,0	0,43		AQ	
22	positiv	104	7,2		BF	
19	positiv	16,0	-2,3		IFP	
3	positiv	27,0	-1,1		IL	
17	positiv	335			IL	Ausreißer ausgeschlossen
5	positiv	29,3	-0,8		MI	Ergebnis umgerechnet °
6	positiv	82,0	4,9		RS	
7	positiv	36,5	-0,06	0,12	RS-F	
9	positiv	40,0	0,32	0,52	RS-F	
12	positiv	15,5	-2,3	-2,25	RS-F	
13	positiv	41,7	0,51	0,71	RS-F	
14	positiv	35,0	-0,22	-0,05	RS-F	
21	positiv	28,0	-1,0		SP	

° Umrechnung s. S. 19

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- IFP = ELISA-Fast, ifp
- IL = Immunolab
- RS = Ridascreeen®, R-Biopharm
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins



**Abb. / Fig. 11:**

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 eine annähernd symmetrische Verteilung der Ergebnisse bei 37 mg/kg mit drei Nebenpeaks aufgrund von Ergebnissen außerhalb des Zielbereichs (Ausreißer bei ca. 300 mg/kg nicht dargestellt).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Erdnuss

### Dotierungsniveauprobe

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt}_{ALL}$	$X_{pt}_{METHOD\ RS-F}$
Anzahl der Messergebnisse	15 <sup>°</sup>	5
Anzahl der Ausreißer	1	0
Mittelwert	41,6	33,7
Median	38,8	36,5
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>37,0</b>	<b>35,4</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>14,4</b>	<b>7,9</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>9,26</b>	<b>8,86</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>18,5</b>	<b>17,7</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>55,5</b>	<b>53,1</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,6	0,89
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,66	4,43
Prozent im Zielbereich	11	4
<b>Kenndaten</b>	73	80

<sup>°</sup> ohne Ergebnis Nr. 17 (Ausreißer ausgeschlossen)

#### Methode:

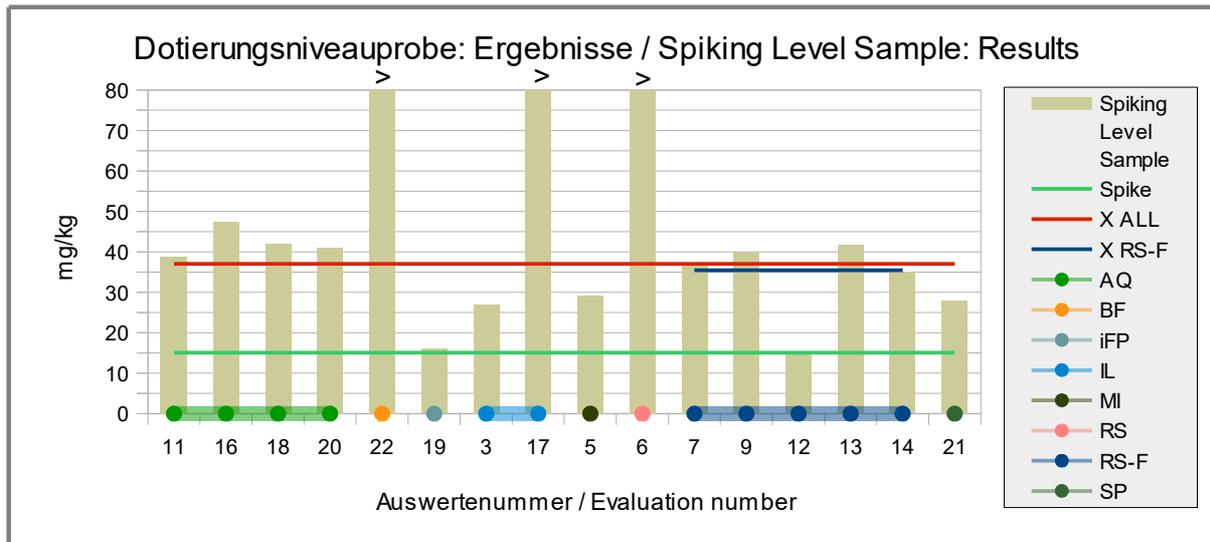
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

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

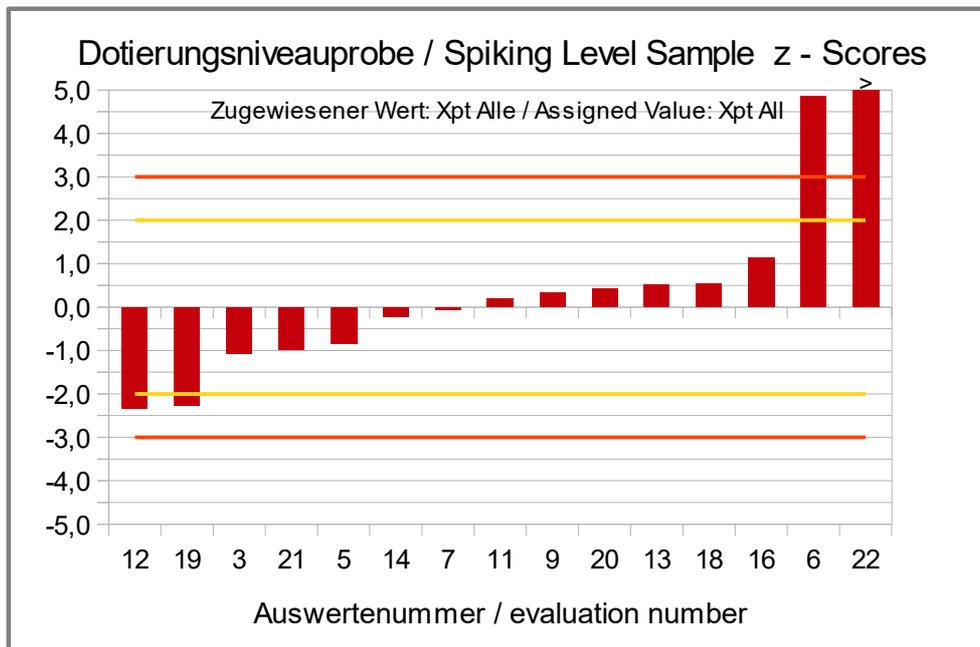
Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine annähernd symmetrische Verteilung der Ergebnisse bei 37 mg/kg mit zwei Nebenpeaks aufgrund zweier Ergebnisse außerhalb des Zielbereichs.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden und der RS-F Methode zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

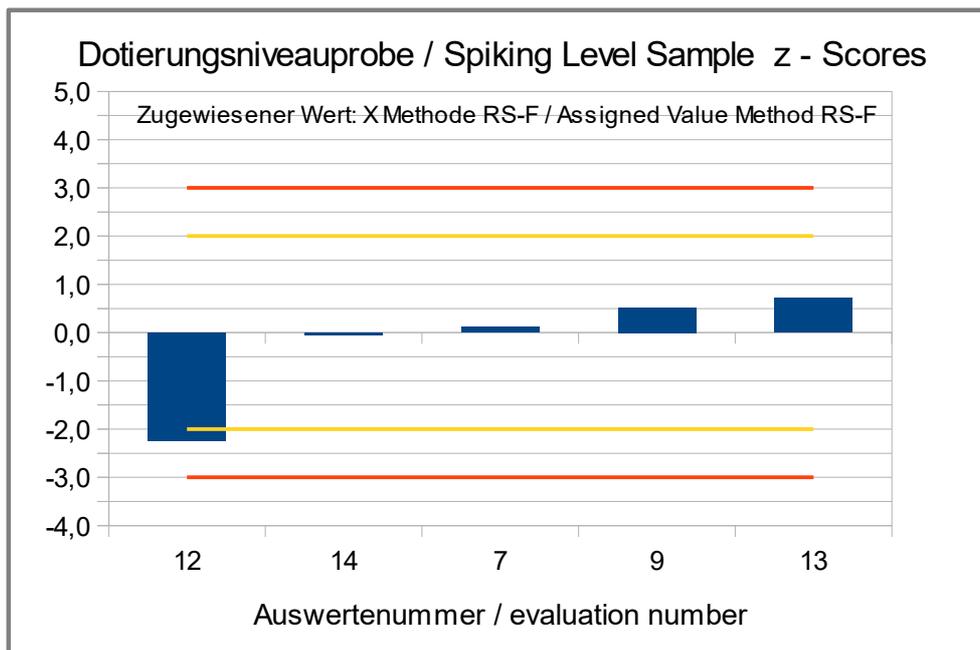
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 246 % bzw. 235 % vom Zusatzniveau von Erdnuss zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.43 "Wiederfindungsraten für Erdnuss").



**Abb./Fig. 12:** ELISA-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 blaue Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse Methode RS-F  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 13:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Erdnuss)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse



**Abb./Fig. 14:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Erdnuss)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert der Ergebnisse der Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen® Fast)

**Wiederfindungsraten mit z-scores ELISA für Erdnuss:  
Dotierungsniveauprobe und Probe B**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe		Wiederfindungsrate*		Probe B		Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]				
11	38,8	257	6,3	27,9	216	4,6	AQ			
16	47,5	315	8,6	31,3	242	5,7	AQ			
18	41,9	278	7,1	34,2	265	6,6	AQ			
20	41,0	272	6,9	30,5	237	5,5	AQ			
22	104,0	691	24	58,0	450	14	BF			
19	16,0	<b>106</b>	0,25	17,0	<b>132</b>	1,3	IFP			
3	27,0	179	3,2	26,4	205	4,2	IL			
17	335	2224	85	294	2279	87	IL			
5	29,3	195	3,8	18,5	<b>143</b>	1,7	MI	Ergebnis umgerechnet °		
6	82,0	544	18	38,2	296	7,8	RS			
7	36,5	242	5,7	28,8	223	4,9	RS-F			
9	40,0	266	6,6	33,0	256	6,2	RS-F			
12	15,5	<b>103</b>	0,12	21,0	163	2,5	RS-F			
13	41,7	277	7,1	27,4	212	4,5	RS-F			
14	35,0	232	5,3	28,0	217	4,7	RS-F			
21	28,0	186	3,4	19,0	<b>147</b>	1,9	SP			

° Berechnung s. S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>2</b>	Anzahl im AB	<b>3</b>
Prozent im AB	<b>13</b>	Prozent im AB	<b>19</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- IFP = ELISA-Fast, ifp
- IL = Immunolab
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe lagen fast alle Wiederfindungsraten, die mit ELISA-Methoden erzielt wurden, deutlich über der AOAC-Anforderung von 50-150 % (Ausnahme: Ergebnisse Nr. 12 und 19). Ähnlich lagen für die verarbeitete dotierte Lebensmittelmatrixprobe B nur drei Wiederfindungsraten (Ergebnisse Nr. 5, 19 und 21) im Bereich von 50-150%. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Erdnuss

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
5	negativ		positiv		2/2 (100%)	ASU	
9	negativ		positiv		2/2 (100%)	CEN	
17	negativ		positiv		2/2 (100%)	GI	
13	negativ	<1	positiv	22,2	2/2 (100%)	SFA	
1	negativ		positiv	610	2/2 (100%)	div	
19	negativ		positiv	15,0	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	6
Anzahl negativ	6	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method  
 CEN = Europäische Norm/ European Committee for standardization  
 GI = GEN-IAL First Allergen  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 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 quantitativer Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Ergebnisse vorlagen.

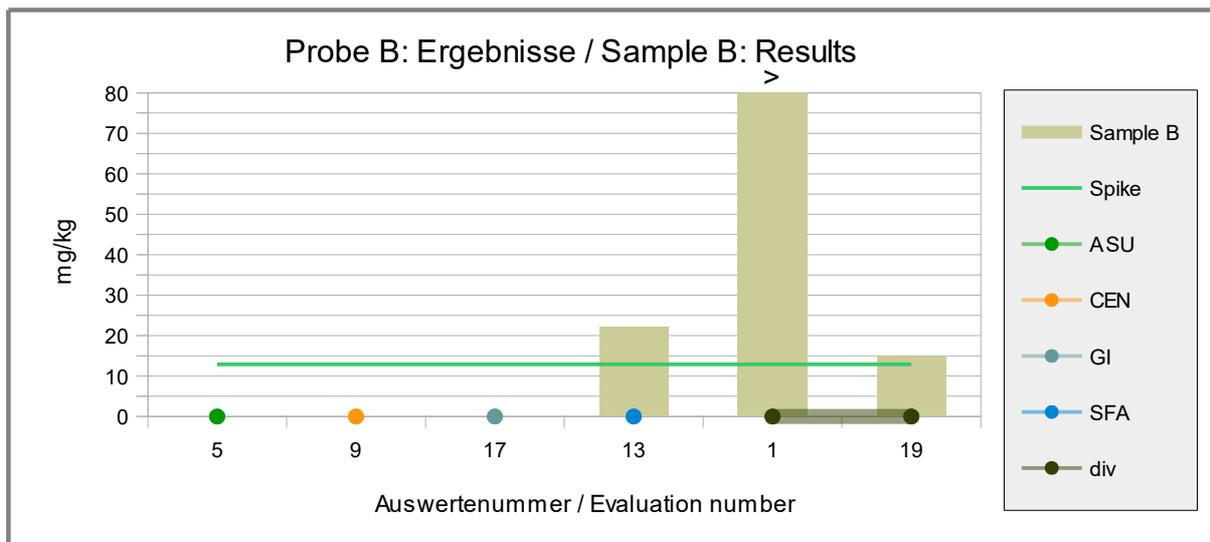


Abb./Fig. 15: PCR-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

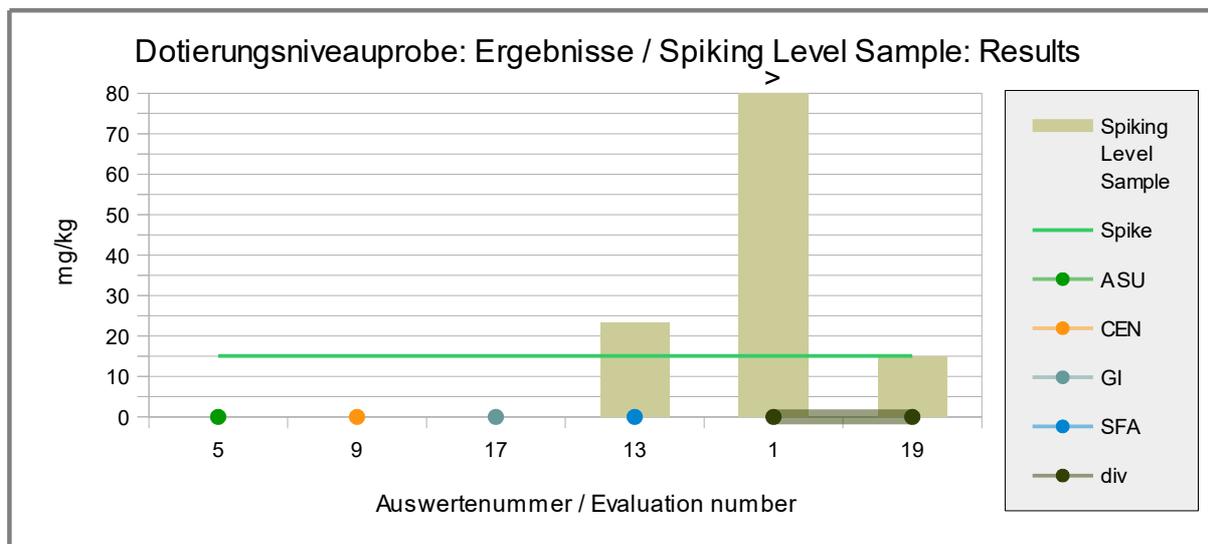
Auswertenummer	Erdnuss pos/neg	Erdnuss [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>RS</sub>	Methode	Hinweis
5	positiv			ASU	
9	positiv			CEN	
17	positiv			GI	
13	positiv	23,3		SFA	
1	positiv	1400		div	
19	positiv	15,0		div	

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method  
 CEN = Euroäische Norm/ European Committee for standardization  
 GI = GEN-IAL First Allergen  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



**Abb./Fig. 16:** PCR-Ergebnisse Erdnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Probe B [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		
5							ASU	
9							CEN	
17							GI	
13	23,3	154	2,2	22,2	172	2,9	SFA	
1	1400	9296	368	610	4729	185	div	
19	15,0	100	0,0	15,0	116	0,65	div	

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

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method  
 CEN = Euroäische Norm/ European Committee for standardization  
 GI = GEN-IAL First Allergen  
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Drei Teilnehmer übermittelten quantitative PCR-Ergebnisse. Ein Teilnehmer hat sowohl für die Dotierungsniveauprobe als auch für die Lebensmittelmatrix-Probe B eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Kokosnuss

#### 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Kokosnuss (als Kokosnussmehl)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]	pos/neg	[mg/kg]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
4	negative	<1	positive	>40	2/2 (100%)	BF	
11	negative	< 2.00	positive	313	2/2 (100%)	BF	
22	negative	0	positive	659	2/2 (100%)	BF	
13	negative	<1,1	positive	112	2/2 (100%)	DE	Ergebnis umgerechnet°
20	negative	<LOD	positive	55,4	2/2 (100%)	ET	
19	negative	<NG	positive	121	2/2 (100%)	IFP	
9	negative		positive	109	2/2 (100%)	IL	Ergebnis umgerechnet°
5	negative	<1,1	positive	88,3	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet°
21	negative	0	positive	92,2	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet°

° Umrechnung s. S. 19

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

**Methoden:**

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 DE = Demeditec ELISA  
 ET = Elution Technologies ELISA Kit  
 IFP = ELISA-Fast, ifp  
 IL = Immunolab  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

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

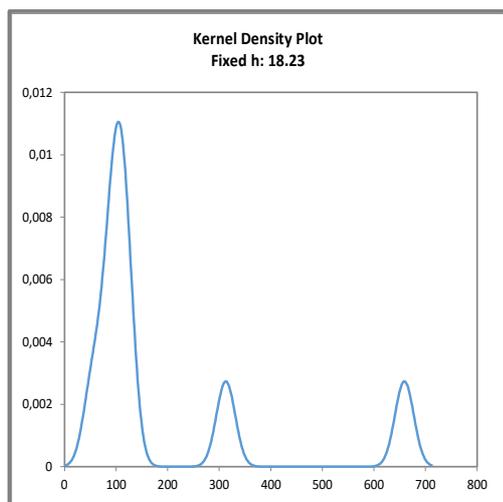
**Quantitative Auswertung ELISA: Probe B**

Auswertenummer	Kokosnuss [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	Methode	Hinweis
4	>40		BF	
11	313		BF	Ergebnis ausgeschlossen
22	659		BF	Ergebnis ausgeschlossen
13	112	0,62	DE	Ergebnis umgerechnet °
20	55,4	-1,7	ET	
19	121	1,0	IFP	
9	109	0,49	IL	Ergebnis umgerechnet °
5	88,3	-0,36	SP	Ergebnis umgerechnet °
21	92,2	-0,20	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung s. S. 19

**Methoden:**

- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- DE = Demeditec ELISA
- ET = Elution Technologies ELISA Kit
- IFP = ELISA-Fast, ifp
- IL = Immunolab
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins



**Abb. / Fig. 17:**

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit einem Maximum bei ca. 100 mg/kg und zwei kleineren Nebenpeaks, die auf zwei Ergebnisse der Methode BF zurückgehen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Kokosnuss**

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

**Probe B**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$
Anzahl der Messergebnisse	6 <sup>°</sup>
Anzahl der Ausreißer	2
Mittelwert	96,4
Median	101
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>97,1</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>24,9</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>24,3</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>48,6</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>146</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,0
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	12,7
Ergebnisse im Zielbereich	6
Prozent im Zielbereich	100

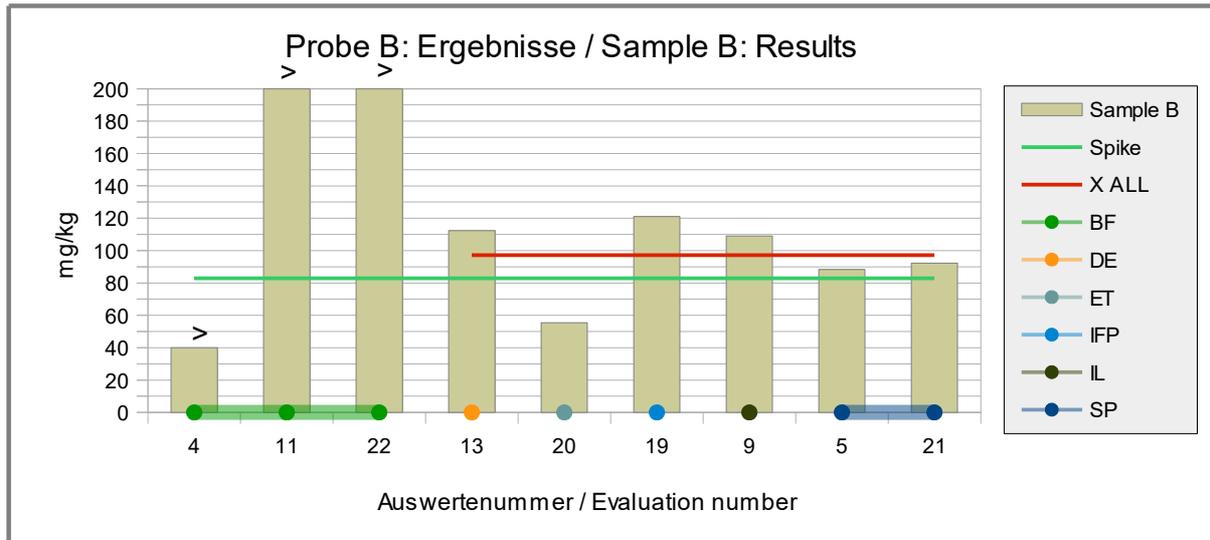
<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 11 und 22 (Ausreißer ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

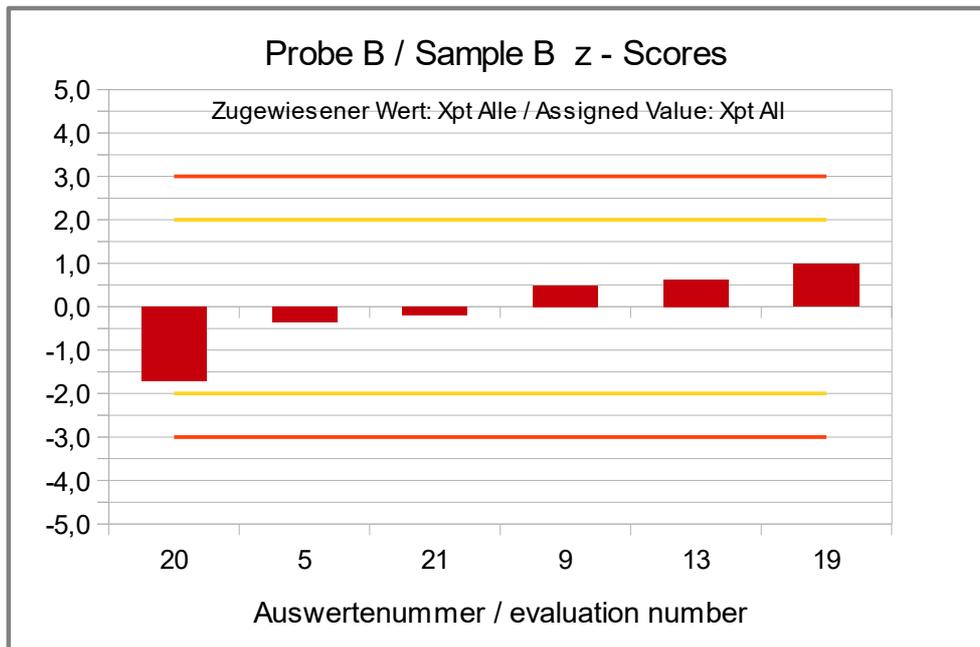
Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine annähernd symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit zwei höheren Ergebnissen. Diese Ergebnisse wurden daher von der statistischen Auswertung ausgeschlossen.

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 117% vom Zusatzniveau von Kokosmehl zu Probe B im Bereich der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.53 "Wiederfindungsraten ELISA für Kokosnuss").



**Abb./Fig. 18:** ELISA-Ergebnisse Kokosnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



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

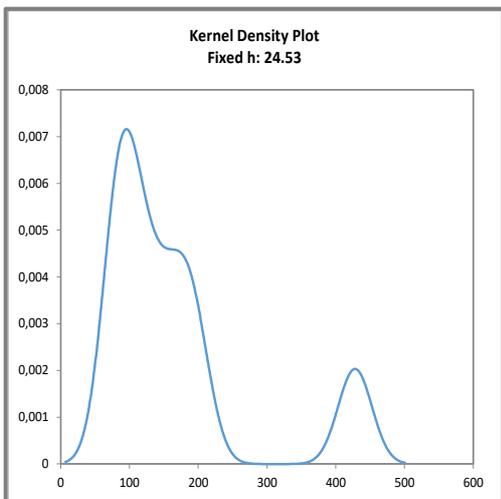
**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Kokosnuss pos/neg	Kokosnuss [mg/kg]	z-Score $X_{ptALL}$	Methode	Hinweis
4	positive	>40		BF	
11	positive	174	1,3	BF	
22	positive	428	9,1	BF	
13	positive	98,0	-1,0	DE	Ergebnis umgerechnet °
20	positive	146	0,45	ET	
19	positive	197	2,0	IFP	
9	positive	83,9	-1,4	IL	Ergebnis umgerechnet °
5	positive	116	-0,46	SP	Ergebnis umgerechnet °
21	positive	78,9	-1,6	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung s. S. 19

**Methoden:**

- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- DE = Demeditec ELISA
- ET = Elution Technologies ELISA Kit
- IFP = ELISA-Fast, ifp
- IL = Immunolab
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins



**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 einen Hauptpeak bei ca. 100 mg/kg mit einer Schulter sowie einem Nebenpeak bei ca. 428 mg/kg, der auf ein Einzelergebnis außerhalb des Zielbereichs zurückgeht (Methode BF).

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Kokosnuss**

Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen erfolgte die nachstehende Auswertung rein informativ:

**Dotierungsniveauprobe**

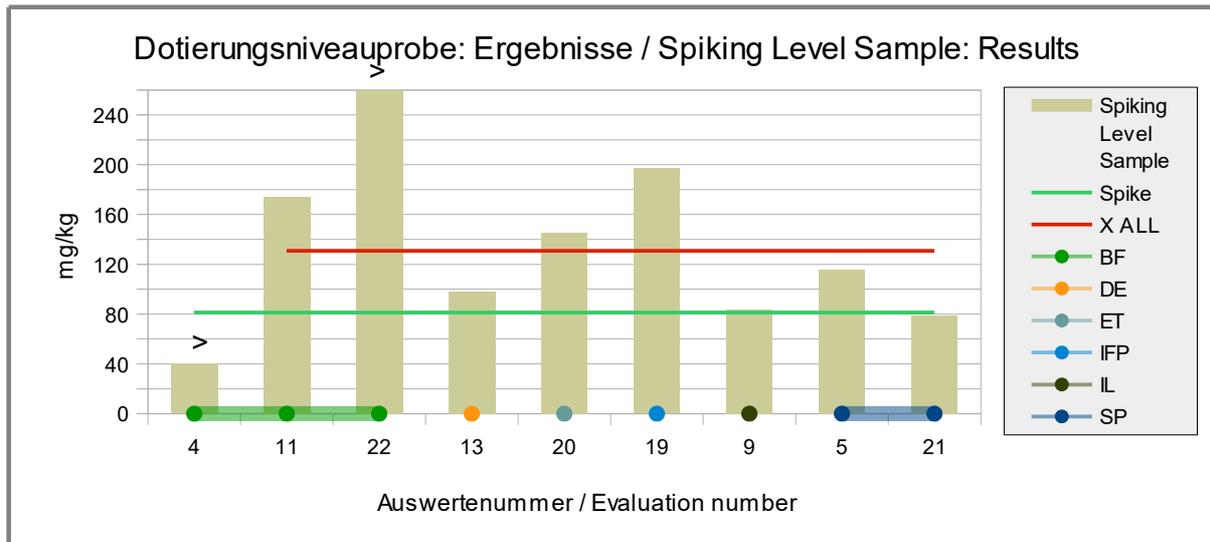
<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt_{ALL}}$
Anzahl der Messergebnisse	8
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	165
Robuster Mittelwert	142
<b>Median (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>131</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>66,3</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>32,7</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>65,4</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>196</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	2,0
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	29,3
Ergebnisse im Zielbereich	7
Prozent im Zielbereich	88

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

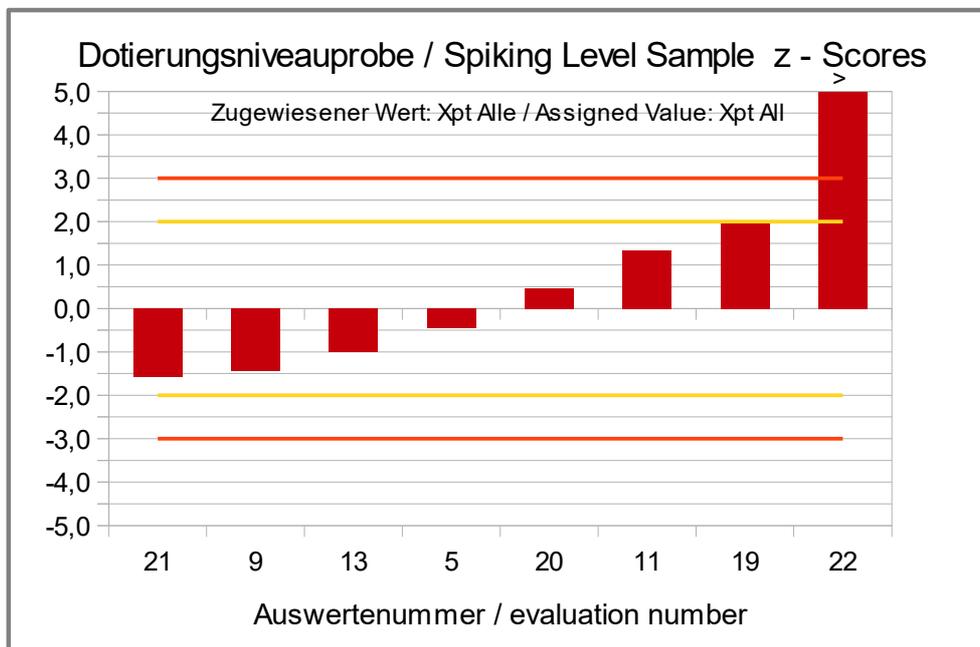
Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter und einem höheren Ergebnis. Es wurden keine Ergebnisse ausgeschlossen, da es keinen eindeutigen Methoden abhängigen Trend gab.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag bei 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 175% vom Zusatzniveau von Kokosmehl zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.53 "Wiederfindungsraten ELISA für Kokosnuss").



**Abb./Fig. 21:** ELISA-Ergebnisse Kokosnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



**Abb./Fig. 22:**  
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Kokosnuss)  
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

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

Evaluation number	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Probe B [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		
4	>40			>40			BF	
11	174	215	4,6	313	377	11	BF	
22	428	527	17	659	795	28	BF	
13	98,0	<b>121</b>	0,83	112	<b>135</b>	1,4	DE	Ergebnis umgerechnet °
20	146	179	3,2	55,4	<b>67</b>	-1,3	ET	
19	197	243	5,7	121	<b>146</b>	1,8	IFP	
9	83,9	<b>103</b>	0,13	109	<b>131</b>	1,3	IL	Ergebnis umgerechnet °
5	116	<b>143</b>	1,7	88,3	<b>107</b>	0,26	SP	Ergebnis umgerechnet °
21	78,9	<b>97</b>	-0,11	92,2	<b>111</b>	0,45	SP	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung s. S. 19

AB **	50-150 %	AB **	50-150 %
Anzahl im AB	<b>4</b>	Number in RA	<b>6</b>
Prozent im AB	<b>50</b>	Percent in RA	<b>75</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies  
 DE = Demeditec ELISA  
 ET = Elution Technologies ELISA Kit  
 IFP = ELISA-Fast, ifp  
 IL = Immunolab  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

50 % (4) der Teilnehmer erreichten mit der ELISA-Methode für die Dotierungsniveauprobe eine Wiederfindungsrate, die im Bereich der AOAC-Empfehlung von 50-150 % lag. Für die bearbeitete, dotierte Lebensmittelmatrixprobe B lagen 75 % (6) der Teilnehmer im Akzeptanz-Bereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Kokosnuss

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	210	2/2 (100%)	div	
19	negativ		positiv	110	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	0	2
Anzahl negativ	2	0
Prozent positiv	0	100
Prozent negativ	100	0
Konsenswert	negativ	positiv

Methoden:

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 quantitativer Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Ergebnisse vorlagen.

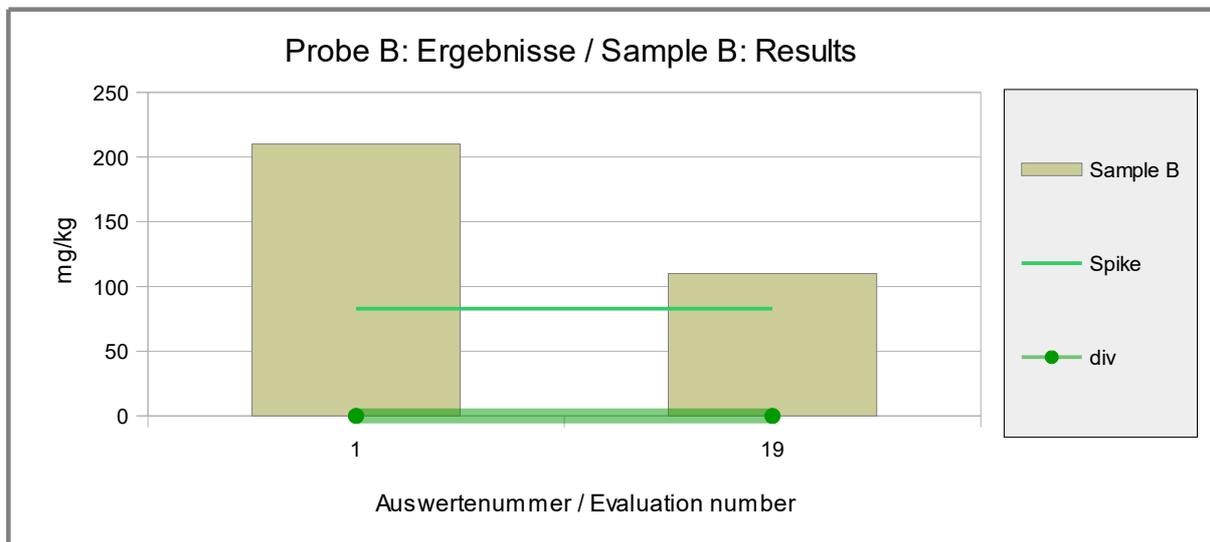


Abb./Fig. 23: PCR-Ergebnisse Kokosnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Qualitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Kokosnuss pos/neg	Kokosnuss [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>VT</sub>	Methode	Hinweis
1	positive	360		div	
19	positive	180		div	

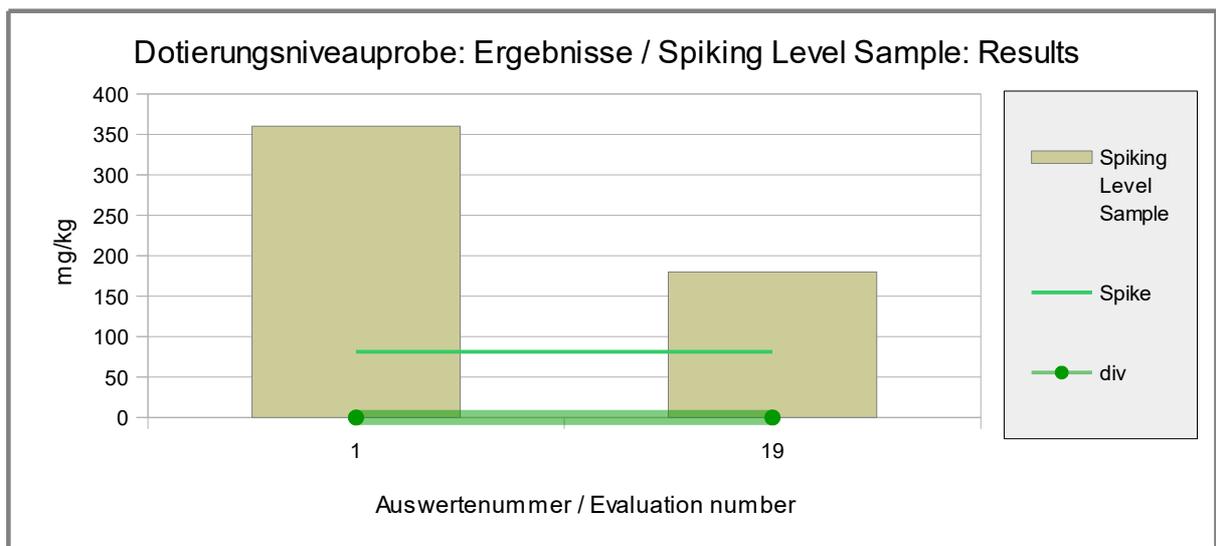
**Methoden:**

div = not indicated / other method

Anzahl positiv	2
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positive

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



**Abb./Fig. 24:** PCR-Ergebnisse Kokosnuss  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

Evaluation number	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe B	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z <sub>RR</sub> ]		[mg/kg]	[%] [Z <sub>RR</sub> ]		
1	360	443	14	210	253	6,1	div	
19	180	222	4,8	110	133	1,3	div	

AB **	50-150 %	AB **	50-150 %
Anzahl im AB	0	Number in RA	1
Prozent im AB	0	Percent in RA	50

**Methoden:**  
div = not indicated / other method

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe lagen beide Wiederfindungsraten mittels PCR-Methoden deutlich über der AOAC-Anforderung von 50-150 %. Für die verarbeitete dotierte Lebensmittelmatrixprobe B lag eine der Wiederfindungsraten innerhalb des Akzeptanzbereichs. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

### 4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA Erdnuss: Xpt (div. Methoden)		ELISA Erdnuss: Xpt (Methode: RS-F)		Auswertenummer	ELISA Kokosnuss: Xpt (div. Methoden)	
	Probe B	Dotierte Probe	Probe B	Dotierte Probe		Probe B	Dotierte Probe
3	-0,24	-1,08			4		
5	-1,4	-0,8			5	-0,36	-0,46
6	1,4	4,9			9	0,49	-1,4
7	0,11	-0,06	0,17	0,12	11		1,3
9	0,70	0,32	0,78	0,52	13	0,62	-1,0
11	-0,03	0,19			19	1,0	2,0
12	-1,0	-2,3	-0,96	-2,2	20	-1,7	0,45
13	-0,10	0,51	-0,04	0,71	21	-0,20	-1,6
14	-0,01	-0,22	0,05	-0,05	22		9,1
16	0,46	1,13					
17							
18	0,87	0,53					
19	-1,6	-2,3					
20	0,35	0,43					
21	-1,3	-1,0					
22	4,3	7,2					

Anmerkung: Für den Parameter Crustaceae wurde keine statistische Auswertung und Berechnung von z-Scores durchgeführt.

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

- 2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in grün)
- 2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in gelb)
- 3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in rot)

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

Auswertenummer	ELISA Crustaceae Protein		ELISA Erdnuss		ELISA Kokosnuss	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1						
2	-3,5	-3,5				
3	-3,1	-3,0	4,2	3,2		
4						
5	-3,1	-3,1	1,7	3,8	0,26	1,7
6			7,8	18		
7	34	38	4,9	5,7		
8	6,8	8,1				
9			6,2	6,6	1,3	0,13
10	-2,6	-2,6				
11			4,6	6,3	11	4,6
12	-3,6	-3,8	2,5	0,12		
13	30	38	4,5	7,1	1,4	0,83
14	4,1	5,2	4,7	5,3		
15	-2,7	-2,7				
16	-3,2	-3,1	5,7	8,6		
17			87	85		
18	-3,8	-3,9	6,6	7,1		
19			1,3	0,25	1,8	5,7
20	-3,9	-3,9	5,5	6,9	-1,3	3,2
21	-2,9	-2,3	1,9	3,4	0,45	-0,11
22	8,2	-0,17	14	24	28	17

Auswertenummer	PCR Crustaceae		PCR Erdnuss		PCR Coconut	
	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe	Probe B	Dot. Probe
1	22	117	185	368	6	14
4						
5						
9						
13			2,9	2,2		
17						
19	2,2	5,2	0,65	0,0	1,3	4,8

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: Crustaceae

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ	10	15.12.20	negative	<0.1	positiv	16,3	positiv	15,5	0,1	0,1	53,1	Crustaceaeprotein	AgraQuant ELISA Crustacea COKAL2248, RomerLabs
AQ	16	05.01.21	-	<0.2	-	9,09	-	10,2	0,2	0,2	45,45	Crustaceaeprotein	AgraQuant ELISA Crustacea COKAL2248, RomerLabs
AQ	18	04.01.21	negativ	<0.02	positiv	1,75	positiv	1,45		0,02	48,3	Crustaceaeprotein	AgraQuant ELISA Crustacea COKAL2248, RomerLabs
AQ	20	17. Nov	-	<LOD	-	3,32	-	4,15	0,0045	0,1		Crustaceae, frisch	AgraQuant ELISA Crustacea COKAL2248, RomerLabs
AS	19	06.01.21	negativ		positiv		positiv		10			Crustaceae, frisch	AgraStrip® Crustacea (COKAL2210AS) RomerLabs
BF	4		negativ	<1	positiv	>40	positiv	>40		1	32,2	Crustaceae, frisch	MonoTrace Crustacea ELISA kit, BioFront Technologies
BF	22	08.01.21	negativ	0	positiv	742	positiv	221	0,07	1		Crustaceae, frisch	Selection Crustaceae-Kits:
ES	12	13.11.2020	negativ	<0,05	positiv	0,79	positiv	0,53	0,05	0,05	50	Tropomyosin	ELISA Systems Crustacean ESCRURD-48
IL	3	03.12.20	negativ		positiv	1,97	positiv	2,07	0,02	0,02		Crustaceaeprotein	ImmunoLab Crustaceans (Tropomyosin) ELISA
RS-F	7	17.12.20	negativ	<20	positiv	500	positiv	520		20		Crustaceae, getrocknet	Ridascreen® FAST Crustacean R7312, R-Biopharm
RS-F	8	30.11.20	-	<20ppm	-	122,45	-	131,44	20			Crustaceaprotein	Ridascreen® FAST Crustacean R7312, R-Biopharm
RS-F	13	27.11.20	negativ	<20	positiv	388,72	positiv	450,72	20	20		Crustaceae, frisch	Ridascreen® FAST Crustacean R7312, R-Biopharm
RS-F	14	27.11.20	negativ	<20	positiv	490	positiv	530	2	20		Crustaceae, frisch	Ridascreen® FAST Crustacean R7312, R-Biopharm
SP	5	13.11.20	negativ	<0,02	positiv	2	positiv	1,9	0,01	0,02		Tropomyosin aus Krustentieren	Eurofins SensiSpec Crustaceans (Tropomyosin) ELISA Kit
SP	15	16.12.20	-	<0,001	-	2,9	-	2,9	0,001	0,02	47	Crustaceaprotein (TROPOMYOSIN)	Eurofins SensiSpec Crustaceans (Tropomyosin) ELISA Kit
SP	21	19.11.20	negativ	0	positiv	2,59	positiv	3,6	0,0009	0,02		Tropomyosin	Eurofins SensiSpec Crustaceans (Tropomyosin) ELISA Kit
VT	2	24.11.20	negativ	<2.5	positiv	24	positiv	22,4		2,5		Crustaceae, frisch	Veratox Crustacea, Neogen

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

Fortsetzung ELISA Crustaceae:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	10	Crustacean-Tropomyosin	19mL ES pre-heated / 15 Minuten / 40 Grad	ja	
AQ	16			ja	
AQ	18			ja	
AQ	20				
AS	19	polyklonal		PV-96-IF-PF-29 : 2019-07 (a)	Schnelltest
BF	4			ja	
BF	22	Monoklonaler Antikörper Test	1:10 Extraktionsverhältnis, 10 Minuten bei 42 °C	nein	
ES	12			ja	
IL	3				
RS-F	7			ja	
RS-F	8				
RS-F	13	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	14	Crustaceen-Proteine, hauptsächlich Tropomyosin		ja	
SP	5	erkennt Krustentier-Tropomyosin	lt. Herstellerangaben	ja	HU 0030006/HU 0030030
SP	15	erkennt Kokosnussprotein	1 g Probe/20 mL Extraktionspuffer ->15' bei 40°C -> 10' bei 2000xg-> 100 ul Überstand w urden analysiert	ja	
SP	21				
VT	2			ja	

**5.1.2 ELISA: Erdnuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ	11	16/11	-	< 1.00	-	27,88	-	38,76	0,1	1		Erdnuss	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
AQ	16	05.01.21	-	<1	-	31,26	-	47,45	1	1	31,79	Erdnuss	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
AQ	18	21.12.20	negativ	<1	positiv	34,15	positiv	41,92		1	48,8	Erdnuss	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
AQ	20	23. Dez	-	<LOD	-	30,53	-	41	0,1	1		Erdnuss	AgraQuant ELISA Peanut COKAL0148, RomerLabs
BF	22	08.01.21	negativ	0	positiv	58	positiv	104	0,12	1		Erdnuss	Selection Peanut-Kits:
IFP	19	14.12.20	negativ	<NG	positiv	17	positiv	16	0,5	1	19,4	Erdnuss	ELISAFast® Erdnuss
IL	3	19.11.20	negativ		positiv	26,4	positiv	27	1	1		Erdnuss	Immunolab Peanut ELISA
IL	17	05.01.21	negativ		positiv	294	positiv	335		1		Erdnuss	Immunolab Peanut ELISA
MI	5	12.11.20	negativ	<0,2	positiv	4,3	positiv	6,8	0,2	0,2		Erdnussprotein	Peanut ELISA Kit enhanced Morinaga
RS	6	22.12.20	-	<2,5	-	38,18	-	81,95	0,13	2,5	20	Erdnuss	Ridascreen Peanut (R6201), r-Biopharm
RS-F	7	17.12.20	negativ	<2,5	positiv	28,8	positiv	36,5		2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	9		negativ		positiv	33	positiv	40	0,6	2		Erdnuss	RIDASCREEN - FAST Peanut Art. No. R6202
RS-F	12	13.11.2020	negativ	<2,5	positiv	21	positiv	15,5	1	2,5	50	Erdnuss	Veratox Peanut, Neogen
RS-F	13	27.11.20	negativ	<1	positiv	27,37	positiv	41,73	1	1		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
RS-F	14	09.12.20	negativ	<2,5	positiv	28	positiv	35	0,13	2,5		Erdnuss	Ridascreen Fast Peanut (R6202), r-Biopharm
SP	21	19.11.20	negativ	0	positiv	19	positiv	28	0,1	1		Erdnuss	Eurofins SensiSpec Peanut ELISA Kit

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

Fortsetzung ELISA Erdnuss:

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	11			ja	
AQ	16			ja	
AQ	18			ja	
AQ	20				
BF	22	Monoklonales Antikörper-Kit	1:10 Extraktionsverhältnis, 10 Minuten bei 60 °C	nein	
IFP	19	polyklonal		ASU L 00.00-69 : 2003-12 (a)	Sandwich ELISA
IL	3				
IL	17			ja	
MI	5	erkennt Erdnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	MloBS Test-Combination M2120
RS	6		Extraktion mit Extraktionspuffer verdünnt bei 60°C bei 10 Minuten. Danach Zentrifugation bei 2500g für 10 Minuten. Verwendung des Überstands	ja	Die Analysen der Probe B und der gespikten Probe wurden zweimal durchgeführt: erstens mit dem erhaltenen Überstands, zweitens nach 1:2 Verdünnung
RS-F	7			ja	
RS-F	9			ja	
RS-F	12			ja	
RS-F	13	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	14	Erdnussproteine, u.a. Ara h1 und Ara h2		ja	
SP	21				

**5.1.3 ELISA: Kokosnuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
BF	4		negativ	<1	positiv	>40	positiv	>40		1	19,4	Kokosnuss	MonoTrace Coconut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	11	04.12.21	-	< 2.00	-	312,81	-	174,27	0,13	2		Kokosnuss	MonoTrace Coconut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	22	08.01.21	negativ	0	positiv	659	positiv	428	0,13	1		Kokosnussmehl	Selection Coconut-Kits:
DE	13	25.02.2021	negativ	<2	positiv	203,45	positiv	177,62	2	2		Kokosnuss	
ET	20	08. Jan	-	<LOD	-	55,4	-	145,6	1	2		Kokosnuss	Elution Technologies ELISA Kit Coconut Protein E-75CNT
IFP	19	06.01.21	negativ	<NG	positiv	121	positiv	197	2	2	20	Kokosraspel/mehl	ELISAFast® Kokosnuss
IL	9		negativ		positiv	192	positiv	152	0,4	2		Kokosnuss	LFOD-TST-SOP-8886 Immunolab Coconut ELISA Cat.-No.: CON-E01
SP	5	17.11.20	negativ	<2	positiv	160	positiv	210	1,5	2		Kokosnuss	Eurofins SensiSpec Coconut ELISA Kit
SP	21	19.11.20	negativ	0	positiv	167	positiv	143	0,4	2		Kokosnuss, frisch	Eurofins SensiSpec Coconut ELISA Kit

\* 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 ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
BF	4			ja	
BF	11			nein	
BF	22	Monoklonales Antikörper-Kit	1:10 Extraktionsverhältnis, 10 Minuten bei 60°C	nein	
DE	13	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	Demeditec Coconut ELISA DECONE01 used
ET	20				
IFP	19	polyklonal		IFP 002822 (ELISA) : 2020-07 (a)	Sandwich ELISA
IL	9				
SP	5	erkennt Kokosnusssprotein	lt. Herstellerangaben	ja	HU0030005/H 0030029
SP	21				

**5.1.4 PCR: Crustaceae**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
SFA	4		negativ	<0,4	positiv		positiv		0,4			Crustaceae DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	9		negativ		positiv		positiv		0,4			Crustaceae DNA	LFOD-TST-SOP-8852 SureFood® ALLERGEN Crustaceans Art. No.: S3612
SFA	13	20.11.20	negativ	<1	positiv	356,45	positiv	529,75	1	1		Crustaceae, frisch	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	17	07.01.21	negativ		positiv		positiv		0,4			Crustaceae-DNA	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
div	1		negativ		positiv	1500	positiv	7000	50	100	30		Auswahl PCR-Methoden
div	19		negativ		positiv		positiv		20				

\* 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 ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	4			ja	nur qualitativ
SFA	9				
SFA	13	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	nein	
SFA	17			ja	
div	1	16S rRNA Gen bei Crustaceae	Wizard/Realtime PCR	nein	
div	19	rDNA		PV-20-PCR-PF-104 (a)	Realtime PCR

**5.1.5 PCR: Erdnuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
ASU	5	04.12.20	negativ		positiv		positiv		10			Erdnuss-DNA	ASU §64 Methode/method
CEN	9		negative		positiv		positiv		10			Erdnuss-DNA	PD CEN/TS 15634-4:2016
GI	17	18.11.20	negativ		positiv		positiv		0,4			Erdnuss-DNA	GEN-IAL First Allergen
SFA	13	20.11.20	negativ	<1	positiv	22,17	positiv	23,26	1	1		Erdnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
div	1		negativ		positiv	610	positiv	1400	50	100	30		
div	19		negativ		positiv	15	positiv	15	1	1	30	Erdnuss	

\* 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 ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	5		CTAB / Proteinase K / Rnase A / Promega Maxwell / Real-time PCR / 45 Zyklen	ja	§ 64 LFGB L 00.00-169:2019-07
CEN	9				
GI	17			ja	
SFA	13	lt. Herstellerangaben	lt. Herstellerangaben	ja	
div	1	Arachis hypogaea, Allergen II Gen	Wizard/Realtime PCR	ja	
div	19	Allergen II Gen		PV-28-PCR-PF-5 (a)	Realtime PCR

**5.1.6 PCR: Kokosnuss**

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg		
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
div	1		negativ		positiv	210	positiv	360	50	100	30		
div	19		negativ		positiv	110	positiv	180	1	1	30	Kokosnuss	

\* 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 ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
div	1	Cocos nucifera partial mRNA for actin (act gene)	Wizard/Realtime PCR	nein	
div	19	rRNA gene		PV-28-PCR-PF-295 : 2014-11 (a)	Realtime PCR

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA ptAL07 Sample B

Gewicht Gesamtprobe	2,02	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	21,3	mg/kg

#### Analysenergebnisse

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	52	20,8
2	5,02	51	20,3
3	5,04	49	19,4
4	4,98	45	18,1
5	5,02	42	16,7
6	4,97	42	16,9
7	4,97	51	20,5
8	5,03	54	21,5

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	48,2	Particles
Standardabweichung	4,58	Particles
χ <sup>2</sup> (CHI-Quadrat)	3,05	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>88</b>	%
Wiederfindungsrate	91	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	19,3	mg/kg
Standardabweichung	1,83	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,5	%
Horwitz Standardabweichung	10,2	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,93</b>	
Wiederfindungsrate	91	%

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA ptAL07 Spiking Level Sample

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	19,5	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	46	18,3
2	4,99	46	18,4
3	5,02	40	15,9
4	5,00	39	15,6
5	5,01	42	16,8
6	4,98	51	20,5
7	4,98	46	18,5
8	4,97	47	18,9

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	44,6	Particles
Standardabweichung	4,10	Particles
χ <sup>2</sup> (CHI-Quadrat)	2,64	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>92</b>	%
Wiederfindungsrate	92	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	17,9	mg/kg
Standardabweichung	1,64	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,2	%
Horwitz Standardabweichung	10,4	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,89</b>	
Wiederfindungsrate	92	%

### 5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	<b>ptAL07 - 2020</b>
EP-Name	<b>Allergene VII: Crustaceae, Erdnuss und Kokosnuss in Instantprodukt mit „Dotierungsniveauprobe“</b>
Probenmatrix (Prozessierung)	<b>Proben A + B: Asiatische Instant-Nudelsuppe (gemahlen) / Zutaten:</b> Nudeln 89% (Weizenmehl, Kartoffelstärke, Palmöl, Salz, Säureregulatoren: E501, E500, E339, Antioxidationsmittel E306, Emulgator E322, Würzmittel), Gewürzpulver 9% (hydrolysiertes pflanzliches Eiweiß, Maltodextrin, Hefeextrakt, Salz, Weizenmehl, schwarzer Pfeffer, rote Chillischoten, Knoblauch, Maismehl), Gemüse-Pilz-Flocken 2% (Pak Choi, Shitake, texturiertes pflanzliches Eiweiß, Karotten, rote Chillischoten, Zwiebeln), weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) <b>Dotierungsniveauprobe:</b> Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Crustaceae (Crustaceaeprotein, DNA), Erdnuss (Erdnussprotein, DNA), Kokosnuss (Kokosnussprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A, B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
Letzter Abgabetermin	<b>spätestens 08. Januar 2021</b>
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
		Deutschland/Germany
		USA
		ITALIEN/ITALY
		KANADA/CANADA
		ITALIEN/ITALY
		Deutschland/Germany
		SCHWEDEN/SWEDEN
		Deutschland/Germany
		KANDA/CANADA
		Deutschland/Germany
		Deutschland/Germany
		SCHWEIZ/SWITZERLAND
		Deutschland/Germany
		GROSSBRITANNIEN/GREAT BRITAIN
		ITALIEN/ITALY
		GROSSBRITANNIEN/GREAT BRITAIN
		GROSSBRITANNIEN/GREAT BRITAIN
		USA
		Deutschland/Germany
		USA
		VIETNAM
		GROSSBRITANNIEN/GREAT BRITAIN

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

- 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 17:1053-63 (2005)
  25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (*Triticum aestivum* L.); Scharf et al.; *J Agric Food Chem.* 61(43):10261-72 (2013)
  26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes<sup>1</sup>, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, *EFSA Journal* 2014;12(11):3894
  27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
  28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. *J Agric Food Chem.* 2015 Feb 18;63(6):1849-55
  29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
  30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
  31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
  32. ASU §64 LFGB L 00.00-169 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Erdnuss in Lebensmitteln mittels real-time PCR (2019) [Foodstuffs, detection and determination of peanut in foods by real-time PCR]
  33. ASU §64 LFGB L 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (*Prunus dulcis*) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of almond (*Prunus dulcis*) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  34. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (*Bertholletia excelsa*) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (*Bertholletia excelsa*) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  35. 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]