



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA ptAL09**

**Allergene IX:**

**Milch (Casein) und Eiklarproteine**

**in Wein**

***DLA - Proficiency Tests GmbH***

*Kalte Weide 21*

*24641 Sievershütten/Germany*

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

*Koordinator der LVU:*

*Dr. Matthias Besler-Scharf / Alexandra Scharf MSc.*

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

<i>EP-Anbieter PT-Provider</i>	<p><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b> Kalte Weide 21, 24641 Sievershütten, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer PT-Number</i>	DLA ptAL09
<i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf Alexandra Scharf MSc.
<i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (15. Juni 2020)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 15. Juni 2020</p>
<i>Unteraufträge Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination</p>
<i>Vertraulichkeit Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	8
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	8
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.....	14
3.5 z-Score.....	15
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	15
3.6 z'-Score.....	16
3.7 Quotient S*/opt.....	16
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	16
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	17
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	17
4. Ergebnisse.....	18
4.1 Vergleichsuntersuchung Milch (Casein).....	20
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein.....	20
4.2 Vergleichsuntersuchung Ei (Eiklarproteine).....	28
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Eiklarproteine.....	28
4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Lysozym.....	37
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	40
5. Dokumentation.....	41
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	41
5.1.1 ELISA: Casein.....	41
5.1.2 ELISA: Eiklarprotein.....	42
5.1.3 ELISA: Lysozym.....	43
5.2 Homogenität.....	44
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	44
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	45
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	46
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	47

## 1. Einleitung

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

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

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

Bei dem Untersuchungsmaterial der Lebensmittelmatrixproben handelt es sich um einen handelsüblichen Rösewein „Cabernet Sauvignon Rosato“ (Italien). Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Der pH-Wert des Weins wurde zur Stabilisierung der Allergene auf pH 7-8 eingestellt.

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

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Magermilchpulver und Eiklarpulver (Weinbehandlungsmittel) enthalten, wurden in der Grundmatrix gelöst und die Mischung homogenisiert.

Die **Dotierungsniveauprobe** wurde mit den oben genannten allergenhaltigen Dotierungsmaterialien unter mehrstufiger Zugabe von Glucose und jeweiliger Homogenisierung hergestellt. Anschließend wurde die gesamte Menge gesiebt (mesh 400 µm) und nochmals homogenisiert.

Die Proben A und B wurden zu Portionen von ca. 50 ml in PE-Flaschen mit Schraubdeckel und die Dotierungsniveauprobe zu Portionen von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Roséwein, Bio Kennzeichnung: Cabernet Sauvignon Rosato 2018, Itali- en, enthält Sulfite, 12,0 % vol  Vorbehandlung: pH-Einstellung mit Na- triumcarbonat-Lösung auf pH 7-8	99,7 g/100 g	100 g/100g	-
Glucose	0,27 g/100 g	-	99,96 g/100 g
<i>Milch:</i> Magermilchpulver-Mischung (9 Produkte aus Europa, USA) - als Magermilchpulver* - davon 33,0% Gesamtprotein** - davon Casein*** - davon $\beta$ -Lactoglobulin***	243 mg/kg 80,3 mg/kg 64,2 mg/kg 8,0 mg/kg	-	280 mg/kg 92,4 mg/kg 73,9 mg/kg 9,2 mg/kg
<i>Eiklar-Pulver</i> (Weinbehandlungsmittel) Zutaten: Hühnereiklar (pasteurisiert, sprühgetrocknet) - als Eiklarpulver* - davon 76,4% Gesamtprotein** (Eiklarprotein) - davon Lysozym***	69,7 mg/kg 53,3 mg/kg 1,87 mg/kg	-	80,2 mg/kg 61,3 mg/kg 2,15 mg/kg

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

\*\* Proteingehalte gemäß Laboranalyse des Rohstoffs (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,38 für Milchprotein und F=6,25 für Eiklarprotein)

\*\*\* Proteingehalte gemäß Literaturangaben berechnet (ca. 80% Caseine und ca. 10%  $\beta$ -Lactoglobulin in Gesamt-Milchprotein [29] und ca. 3,5% Lysozym in Eiklarprotein [30, 35])

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

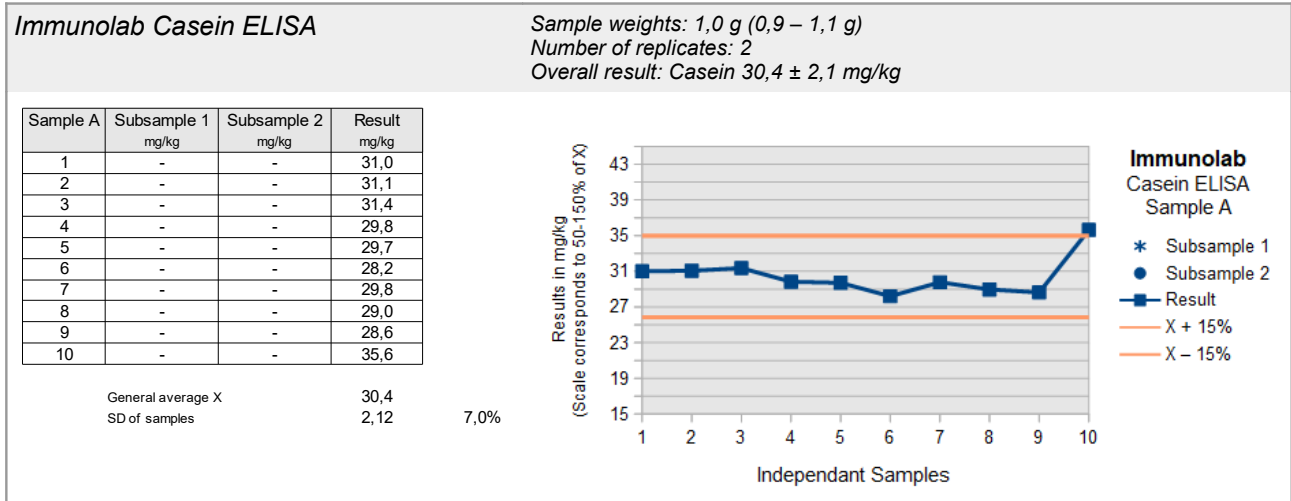
### 2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in  $\mu\text{m}$ -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von  $\geq 5\%$  ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von  $\geq 25\%$  mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden Dotierungsniveauprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 54% 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 1,2 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

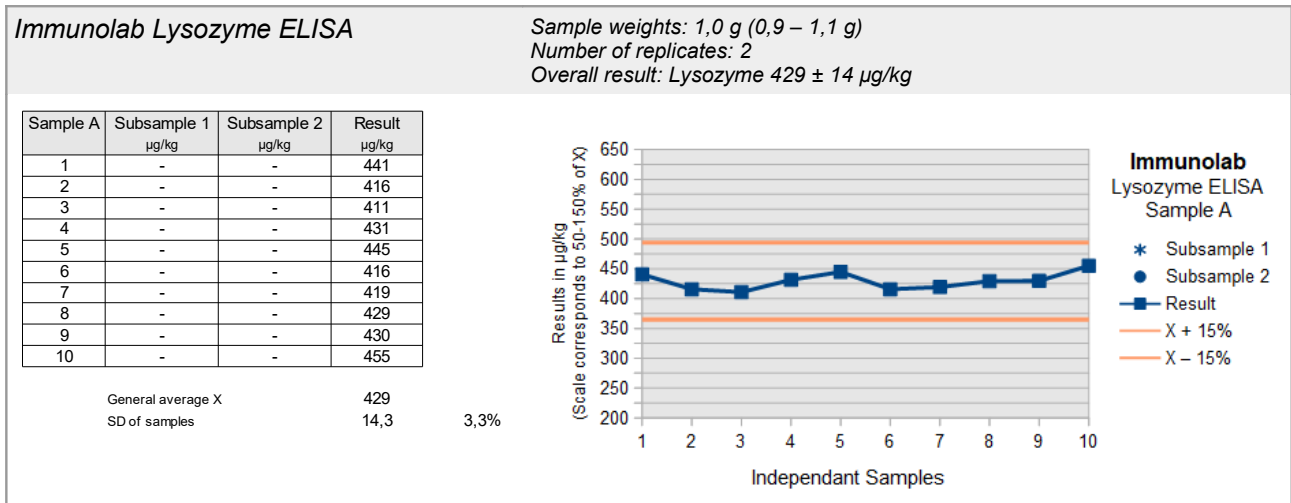
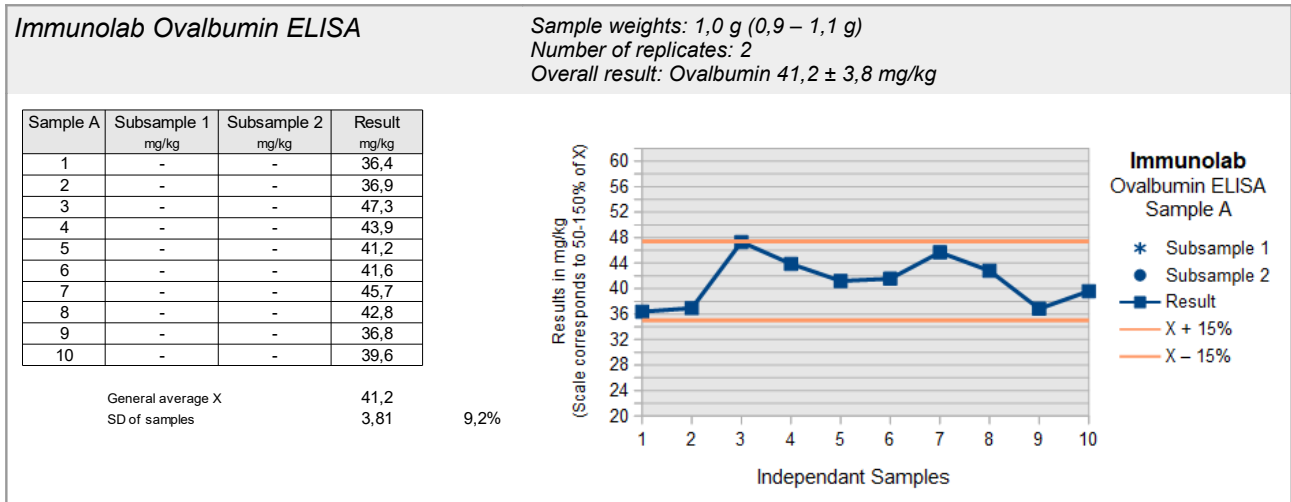
Die **Homogenität der abgefüllten DLA-Proben** (dotierte Probe A) wurde anhand der Allergen-Gehalte von Casein, Ovalbumin und Lysozym mittels ELISA-Tests geprüft (s. nächste Seite) und mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von  $< 15\%$  für das verwendete Verfahren als hinreichend gesichert angesehen [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 Milch / Homogeneity Milk**



**ELISA-Tests: Homogenität Ei / Homogeneity Egg**



### 2.1.2 Stabilität

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Wein. In eigenen Langzeit-Stabilitätstests über zwei Jahre hat sich der Parameter Eiklarproteine als stabil erwiesen, während die Gehalte an Casein abgenommen haben (ELISA-Bestimmungen). Im Stabilitätstest über den LVU-Zeitraum wurde keine Abnahme der Parameter beobachtet.

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

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

Der  $a_w$ -Wert der Dotierungsniveauprobe lag bei ca.  $0,43$  ( $20,4^\circ\text{C}$ ). 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 7. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 27. März 2020 (verlängert).

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

*Es handelt sich um zwei unterschiedliche Proben A und B mit möglichen Gehalten an den allergenen Parametern Milch (als **Magermilchpulver, Casein**) und Ei (als **Eiklarprotein, Ovalbumin, Lysozym**) im mg/kg Bereich in der Matrix Wein (Rosé). 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.*

**Wichtiger Hinweis:** Der pH-Wert der Weinproben A und B wurde mit einer Natriumcarbonat-Lösung auf pH 7-8 eingestellt, um die Allergene in Lösung/Suspension zu stabilisieren. Vor der Analyse empfehlen wir, die Weinproben vorsichtig umzuschwenken.

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



### **2.3 Ergebnisübermittlung**

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

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

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

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

Alle 11 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

### 3. Auswertung

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

### 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

### 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

#### 3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und 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.  $1 \text{ mg/kg} = 1 \text{ ppm} = 10^{-6} \text{ kg/kg}$ )

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 2 aufgeführten Präzisionsdaten wurden in Ringversuchen mittels teils modifizierten ELISA-Testkit-Methoden anhand von gespikten Weinproben erhalten [31, 32, 34]. In Abhängigkeit des Allergen-Gehalts wurden im Bereich  $> 1 \text{ mg/L}$  relative Vergleichsstandardabweichungen von ca. 12 – 36 % und im Bereich  $< 1 \text{ mg/L}$  von ca. 14 – 90 % erhalten.

**Tabelle 2:** Relative Wiederholstandardabweichungen ( $RSD_r$ ) und relative Vergleichsstandardabweichungen ( $RSD_R$ ) gemäß Auswertungen von Versuchen zur Präzision [31, 32, 34]

Parameter	Matrix	Mittelwerte	$RSD_r$	$RSD_R$	Methode / Literatur
Caseinat	Weißweine	0,057 – 0,78 mg/L	-	35,1 – 90,0 %	ELISA [31]
Caseinat	Weißweine	1,4 – 3,0 mg/L	-	20,3 – 29,4 %	ELISA [31]
Caseinat	Weißweine	6,3 – 6,8 mg/L	-	12,1 – 21,4 %	ELISA [31]
Eiklarproteine	Rotweine	1,0 – 1,4 mg/L	23,0 – 27,6 %	30,6 – 32,9 %	ELISA [32]
Eiklarproteine	Rotweine	3,5 – 4,2 mg/L	14,7 – 19,3 %	26,2 – 31,1 %	ELISA [32]
Eiklarproteine	Rotweine	5,9 – 6,9 mg/L	12,5 – 16,5 %	20,1 – 25,7 %	ELISA [32]
Casein	Rotweine	1,02 mg/L	11,7 %	19,4 %	ELISA [34]
Casein	Rotweine	5,6 – 8,5 mg/L	14,7 – 24,0 %	24,8 – 35,6 %	ELISA [34]
Casein	Weißweine	0,12 – 0,80 mg/L	9,1 – 35,0 %	13,7 – 53,8 %	ELISA [34]
Casein	Weißweine	4,1 – 5,5 mg/L	10,8 – 13,6 %	16,7 – 18,3 %	ELISA [34]
Eiklarproteine	Rotweine	0,26 mg/L	55,5 %	67,5 %	ELISA [34]
Eiklarproteine	Rotweine	1,1 – 7,6 mg/L	10,3 – 12,3 %	13,2 – 21,3 %	ELISA [34]
Eiklarproteine	Weißweine	0,59 mg/L	37,4 %	52,1 %	ELISA [34]
Eiklarproteine	Weißweine	3,6 – 6,5 mg/L	11,1 – 17,3 %	17,2 – 22,1 %	ELISA [34]

### 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	± 25% <sup>(a)</sup>	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

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

### Gesetzliche Regelungen und Höchstwert-Empfehlungen

Die Kennzeichnung von Allergenen ist in der Lebensmittel-Informations-VO (EU 1169/2011) geregelt. Speziell für Wein ist die Art und Weise der Kennzeichnung der Verwendung von allergenhaltigen Schönungsmitteln bei der Weinherstellung in der Durchführungsverordnung (EU 579/2012) vorgeschrieben [30-33]. Neben Schwefeldioxid sind Weinbehandlungsmittel auf Basis von Milch und Ei auf dem Etikett anzugeben, sofern sie im Wein nachweisbar sind. Aufgrund von Ringversuchsdaten wurden von der Internationalen Organisation für Rebe und Wein (OIV) als Nachweisgrenze ≤ 0,25 mg/L und als Bestimmungsgrenze ≤ 0,5 mg/L als Kriterien für die Quantifizierung von Casein aus Milch sowie Albumin und/oder Lysozym aus Ei in Wein festgelegt [33].

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

#### 3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert  $> 3,0$  oder  $< -3,0$  ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichermäßen 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 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-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.

ELISA-Ergebnisse, die als **Magermilchpulver, Milchprotein (gesamt)** und **Summe aus Casein und beta-Lactoglobulin** angegeben wurden, sind in **Casein** umgerechnet worden. Es wurden dazu die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers für den Gehalt an Casein in Magermilchpulver berücksichtigt (Neogen Allergen-Handbuch: 28,8%). Ergebnisse als Gesamt-Milchprotein wurden mit dem Literaturwert von 80% Casein in Gesamt-Milchprotein in Casein umgerechnet. Ein Ergebnis, dass als Summe aus Casein und beta-Lactoglobulin angegeben wurde, wurde mit den Literaturwerten von 10% beta-Lactoglobulin und 80% Casein in Casein umgerechnet (AgraQuant Milch).

ELISA-Ergebnisse, die als **Volleipulver, Gesamteiproteine (Summe Eiklar- und Eigelbprotein)** bzw. **Ovalbumin** angegeben wurden, sind in **Eiklarproteine** umgerechnet worden. Sofern angegeben wurden die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers berücksichtigt. Es wurde ein Anteil von 26,3% für Ridascreen ELISA und für alle anderen 26% Eiklarprotein in **Volleipulver** zugrunde gelegt [36]. Gesamteiprotein-Gehalte wurden für die Morinaga ELISA-Ergebnisse angegeben. Hier wurden 47% Gesamteiprotein für die Umrechnung in Volleipulver zugrunde gelegt (Literatur: 46% Nährwerttabellen Souci-Fachmann-Kraut / 48% USDA Nutrient Database) und anschließend mit dem Literaturwert von 26% Eiklarprotein in Volleipulver auf Eiklarprotein umgerechnet. Für Ovalbumin wurde gemäß Testkit-Anleitung (SensiSpec) von 75% Kreuzreaktivität zu Eiklarprotein ausgegangen (entsprechend 75% Ovalbumin in Eiklarprotein).

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

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

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

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

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

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

<sup>o</sup> Zielbereich berechnet mit z-Score oder z'-Score

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

### 4.1 Vergleichsuntersuchung Milch (Casein)

#### 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Casein

#### 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		
4a	positiv	30,0	negativ	<LOD	2/2 (100%)	AQ-C	
11	positiv	1,30	negativ	<0,2	2/2 (100%)	AQ-C	
4b	positiv	38,4	negativ	<LOD	2/2 (100%)	AQ-M	Ergebnis umgerechnet °
10	positiv	49,0	negativ		2/2 (100%)	IL	
2	positiv	71,0	negativ	<0,25	2/2 (100%)	MI-II	
5	positiv	89,9	negativ		2/2 (100%)	RS-FC	
6	positiv	58,0	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-FC	
8a	positiv	75,6	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-FC	
9	positiv	29,5	negativ		2/2 (100%)	RS-FC	
8b	positiv	147	negativ	<2,0	2/2 (100%)	RS-FM	Ergebnis umgerechnet °
1	positiv	68,5	negativ	<0,18	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	positiv	44,1	negativ	0,12	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	12	0
Anzahl negativ	0	12
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

#### Methoden:

AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs  
 AQ-M = AgraQuant Milk, RomerLabs  
 IL = Immunolab  
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II  
 RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm  
 RS-FM= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

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

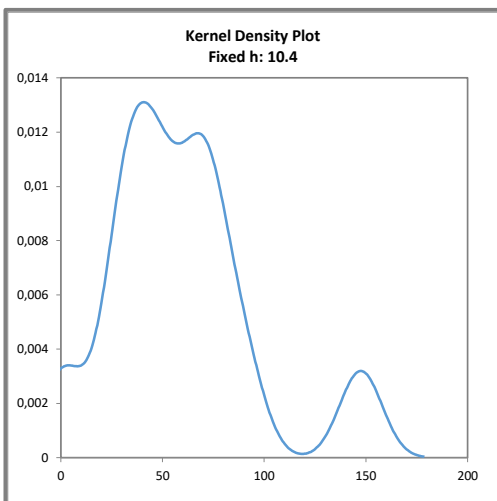
**Quantitative Auswertung ELISA: Probe A**

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score X <sub>pt</sub> <sup>ALL</sup>	Methode	Hinweis
4a	30,0	-1,8	AQ-C	
11	1,30		AQ-C	Ergebnis ausgeschlossen
4b	38,4	-1,2	AQ-M	Ergebnis umgerechnet °
10	49,0	-0,46	IL	
2	71,0	1,1	MI-II	
5	89,9	2,5	RS-FC	
6	58,0	0,19	RS-FC	
8a	75,6	1,5	RS-FC	
9	29,5	-1,9	RS-FC	
8b	147		RS-FM	Ergebnis umgerechnet ° Ergebnis ausgeschlossen
1	68,5	0,94	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	44,1	-0,82	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

**Methoden:**

- AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs
- AQ-M = AgraQuant Milk, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm
- RS-FM= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 1:**

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine überlappende, zweigipfelige Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter bei <10 mg/kg und einem Nebenpeak bei 147 mg/kg, die auf zwei Einzelergebnisse außerhalb des Zielbereichs zurückgehen. Eine Methodenabhängigkeit der leicht bimodalen Verteilung ist nicht erkennbar.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein****Probe A**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$
Anzahl der Messergebnisse <sup>°</sup>	10
Anzahl der Ausreißer	2
Mittelwert	55,4
Median	53,5
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>55,4</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>23,3</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>13,8</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>27,7</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>83,1</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,7
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	9,20
Ergebnisse im Zielbereich	9
Prozent im Zielbereich	90

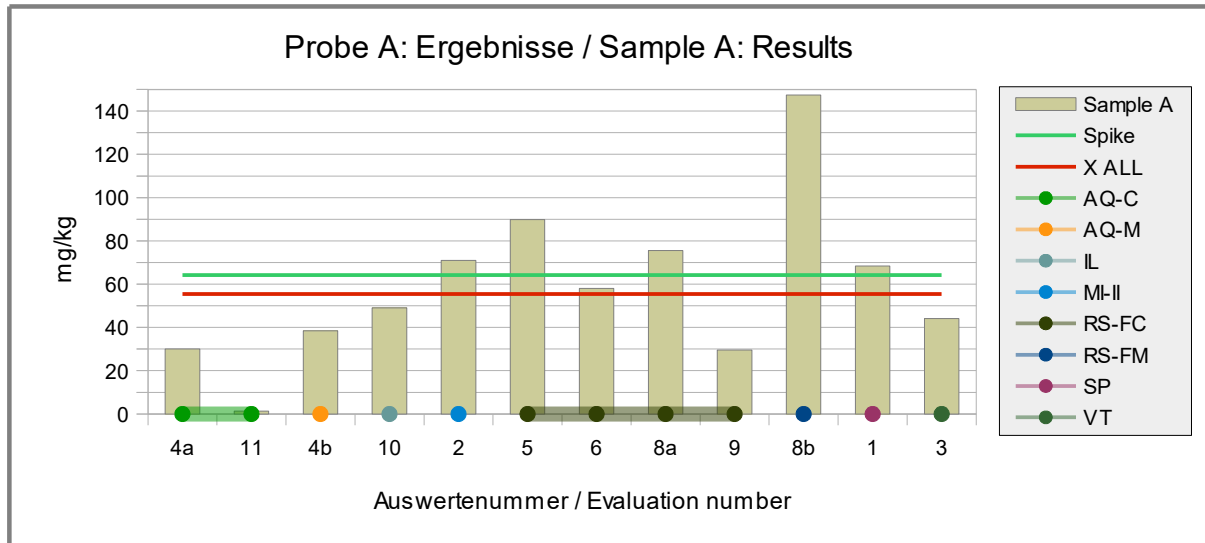
<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 8b u. 11 (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

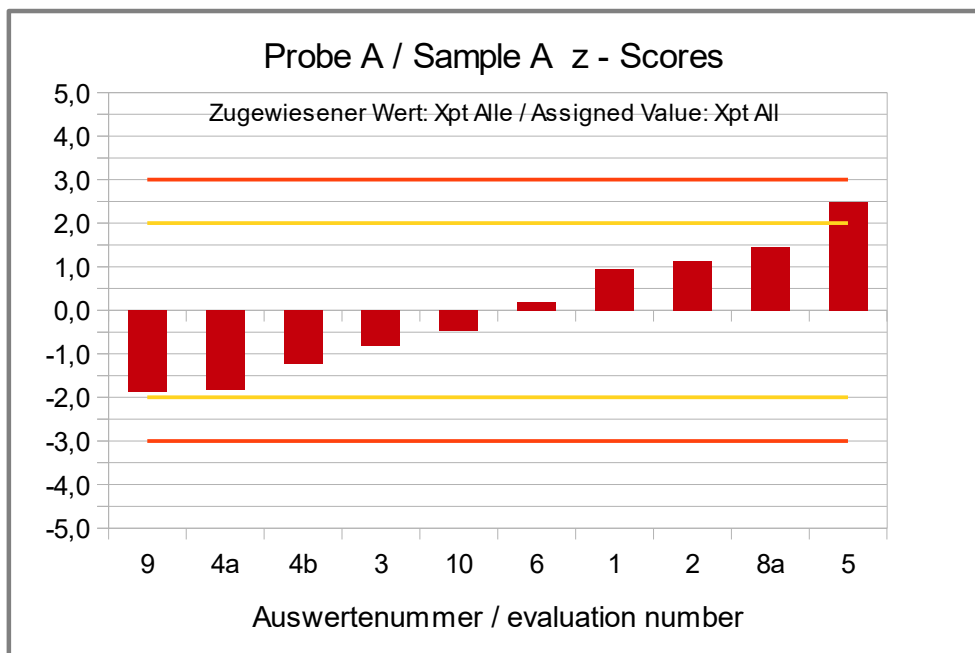
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. 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 vorliegen.

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 86% vom Zusatzniveau von Casein zu Probe A, innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.27 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Casein").



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



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

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Casein [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	Methode	Hinweis
4a	75,0	0,24	AQ-C	
11	46,4	-1,4	AQ-C	
4b	59,2	-0,65	AQ-M	Ergebnis umgerechnet °
10	71,0	0,01	IL	
2	76,0	0,30	MI-II	
5	152		RS-FC	Ergebnis ausgeschlossen
6	86,7	0,90	RS-FC	
8a	61,1	-0,54	RS-FC	
9			RS-FC	
8b	159		RS-FM	Ergebnis umgerechnet ° Ergebnis ausgeschlossen
1	80,3	0,54	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	75,7	0,28	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

**Methoden:**

AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs

AQ-M = AgraQuant Milk, RomerLabs

IL = Immunolab

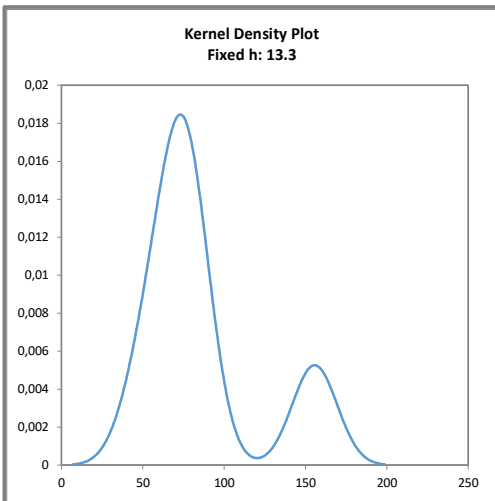
MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm

RS-FM= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 4:**

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 symmetrische Verteilung mit einem Nebenpeak bei ca. 155 mg/kg, der auf zwei Einzelwerte außerhalb des Zielbereiches zurückgeht.



**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Casein****Dotierungsniveauprobe**

<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$
Anzahl der Messergebnisse <sup>°</sup>	9
Anzahl der Ausreißer	2
Mittelwert	70,2
Median	75,0
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>70,8</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>12,7</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>17,7</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>35,4</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>106</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	0,72
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,30
Ergebnisse im Zielbereich	9
Prozent im Zielbereich	100

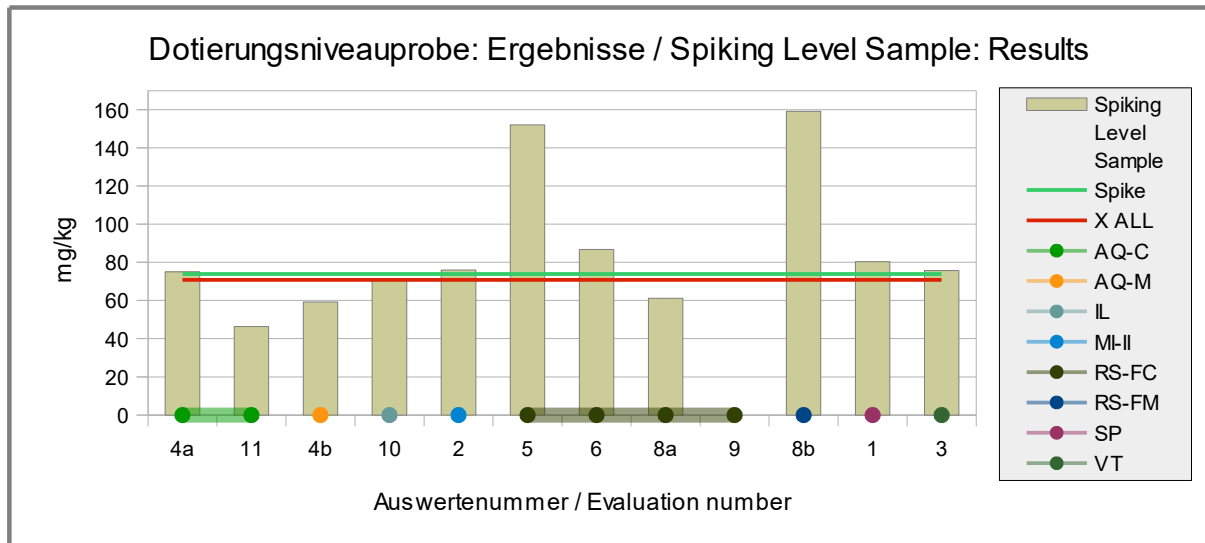
<sup>°</sup> ohne Ergebnisse Nr. 5 u. 8b (vorab ausgeschlossen)

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

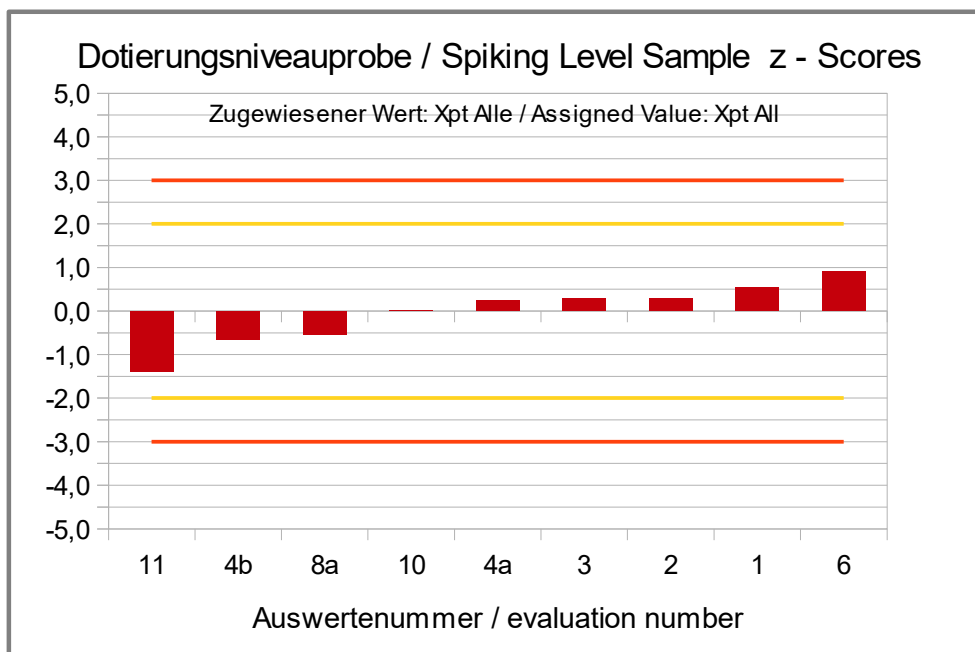
Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse (mit zwei hohen Einzelwerten).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient  $S^*/\sigma_{pt}$  lag unter 1,0. 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 96% vom Zusatzniveau von Casein zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.27 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELSIA für Casein").



**Abb./Fig. 5:** ELISA-Ergebnisse Casein  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)



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

**Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Casein:  
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z <sub>RR</sub> ]		[mg/kg]	[%] [Z <sub>RR</sub> ]		
4a	75,0	<b>101</b>	0,06	30,0	47	-2,1	AQ-C	
11	46,4	<b>63</b>	-1,5	1,30	2	-3,9	AQ-C	
4b	59,2	<b>80</b>	-0,80	38,4	<b>60</b>	-1,6	AQ-M	Ergebnis umgerechnet °
10	71,0	<b>96</b>	-0,16	49,0	<b>76</b>	-0,95	IL	
2	76,0	<b>103</b>	0,11	71,0	<b>111</b>	0,42	MI-II	
5	152	206	4,2	89,9	<b>140</b>	1,6	RS-FC	
6	86,7	<b>117</b>	0,69	58,0	<b>90</b>	-0,39	RS-FC	
8a	61,1	<b>83</b>	-0,69	75,6	<b>118</b>	0,71	RS-FC	
9				29,5	46	-2,2	RS-FC	
8b	159	215	4,6	147	230	5,2	RS-FM	Ergebnis umgerechnet °
1	80,3	<b>109</b>	0,35	68,5	<b>107</b>	0,26	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	75,7	<b>102</b>	0,10	44,1	<b>69</b>	-1,3	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>9</b>	Anzahl im AB	<b>8</b>
Prozent im AB	<b>82</b>	Prozent im AB	<b>67</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

- AQ-C = AgraQuant Casein, RomerLabs
- AQ-M = AgraQuant Milk, RomerLabs
- IL = Immunolab
- MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
- RS-FC= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm
- RS-FM= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

82% (9) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 67% (8) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Ei (Eiklarproteine)

### 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Eiklarproteine

#### 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	positiv	23,0	negativ	<LOD	2/2 (100%)	AQ	
11	positiv	18,2	negativ	<0,4	2/2 (100%)	BC	
2	positiv	28,2	negativ	<0,17	2/2 (100%)	MI	Ergebnis umgerechnet °
6a	positiv	45,4	negativ	<0,07	2/2 (100%)	RS	
8	positiv	37,3	negativ	<0,13	2/2 (100%)	RS	Ergebnis umgerechnet °
5	positiv	34,1	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
6b	positiv	36,9	negativ	<0,13	2/2 (100%)	RS-F	
7	positiv	13,6	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
9	positiv	24,9	negativ		2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	positiv	23,9	negativ		2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
1	positiv	45,6	negativ	<0,02	2/2 (100%)	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	positiv	39,8	negativ	0	2/2 (100%)	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	12	0
Anzahl negativ	0	12
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

#### Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 BC = BioCheck ELISA  
 MI = Morinaga Institute ELISA  
 RS = Ridascreen®, R-Biopharm  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 VT = Veratox, Neogen

#### Anmerkung:

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

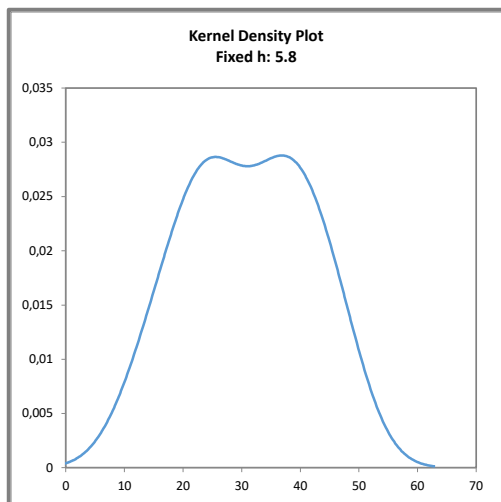
**Quantitative Auswertung ELISA: Probe A**

Auswertenummer	Eiklarprotein [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	z-Score Xpt <sub>RS-F</sub>	Methode	Hinweis
4	23,0	-1,0		AQ	
11	18,2	-1,6		BC	
2	28,2	-0,35		MI	Ergebnis umgerechnet °
6a	45,4	1,9		RS	
8	37,3	0,83		RS	Ergebnis umgerechnet °
5	34,1	0,41	1,1	RS-F	
6b	36,9	0,77	1,5	RS-F	
7	13,6	-2,2	-2,0	RS-F	
9	24,9	-0,78	-0,27	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	23,9	-0,90	-0,41	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
1	45,6	1,9		SP	Ergebnis umgerechnet °
3	39,8	1,1		VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- MI = Morinaga Institute ELISA
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 7:**

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer leicht zweigipfeligen Spitze. Eine Methodenabhängigkeit ist nicht zu erkennen.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Eiklarprotein****Probe A**

<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	12	5
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	30,9	26,7
Median	31,2	24,9
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>30,9</b>	<b>26,7</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>11,9</b>	<b>10,5</b>
<i>Zielkenndaten:</i>		
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>7,73</b>	<b>6,67</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>15,5</b>	<b>13,3</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>46,4</b>	<b>40,0</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,5	1,6
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,29	5,85
Ergebnisse im Zielbereich	11	5
Prozent im Zielbereich	92	100

**Methoden:**

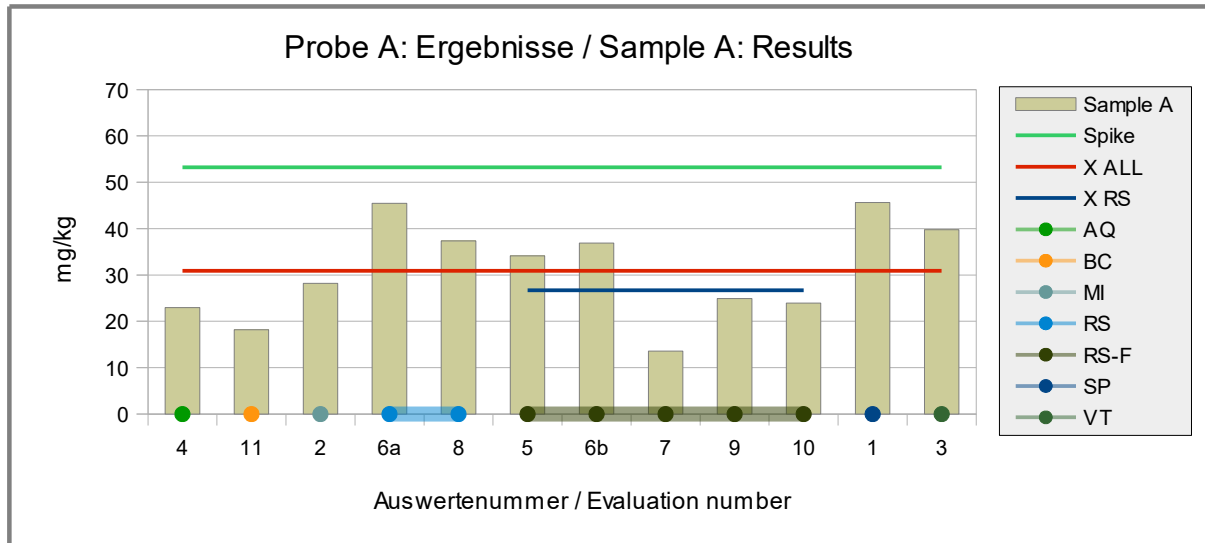
RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

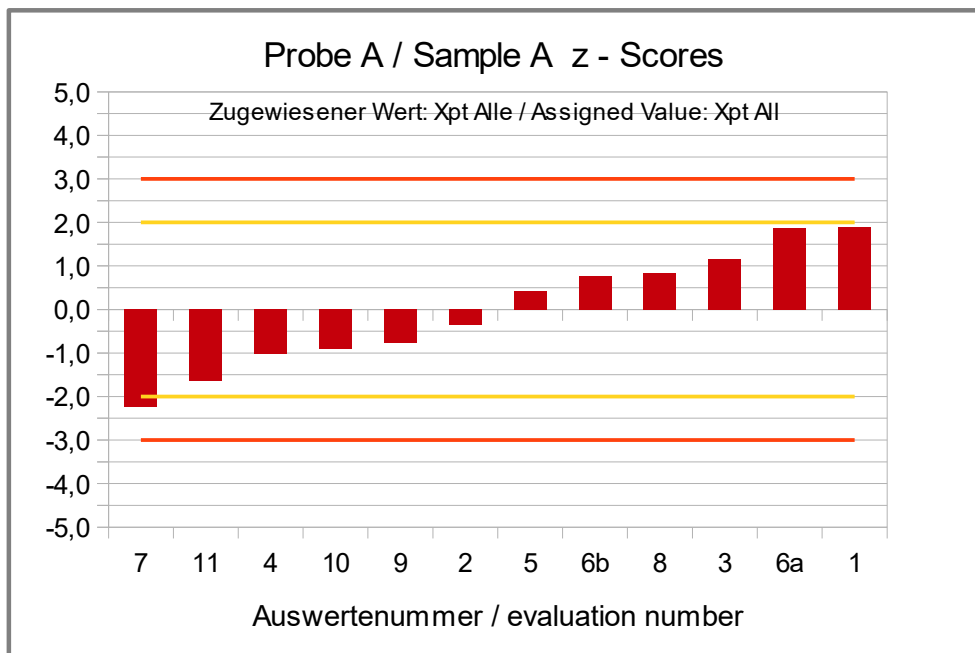
Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede.

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

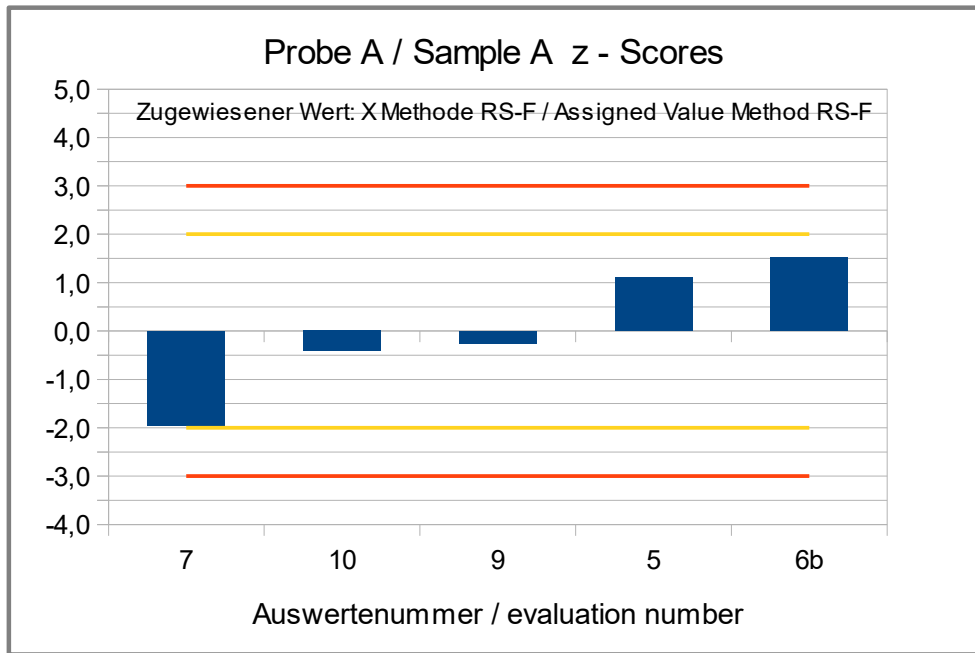
Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 58% bzw. 50% vom Zusatzniveau von Eiklar zu Probe A innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.36 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Eiklarprotein").



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



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



**Abb./Fig. 10:**

z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Eiklarprotein), Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F (R-Biopharm, Ridascreen Fast)



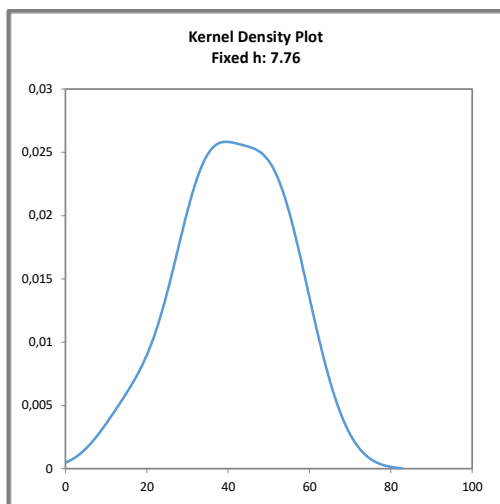
**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Auswertenummer	Eiklarprotein [mg/kg]	z-Score $X_{pt_{ALL}}$	Methode	Hinweis
4	34,0	-0,71	AQ	
11	33,2	-0,79	BC	
2	29,9	-1,11	MI	Ergebnis umgerechnet °
6a	59,5	1,8	RS	
8	50,4	0,87	RS	Ergebnis umgerechnet °
5	38,5	-0,28	RS-F	
6b	47,3	0,57	RS-F	
7	16,5	-2,4	RS-F	
9			RS-F	Ergebnis umgerechnet °
10	37,3	-0,39	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
1	52,4	1,1	SP	Ergebnis umgerechnet °
3	51,0	0,92	VT	Ergebnis umgerechnet °

° Umrechnung S. 18

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- MI = Morinaga Institute ELISA
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen



**Abb. / Fig. 11:**

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.

**Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Eiklarprotein****Dotierungsniveauprobe**

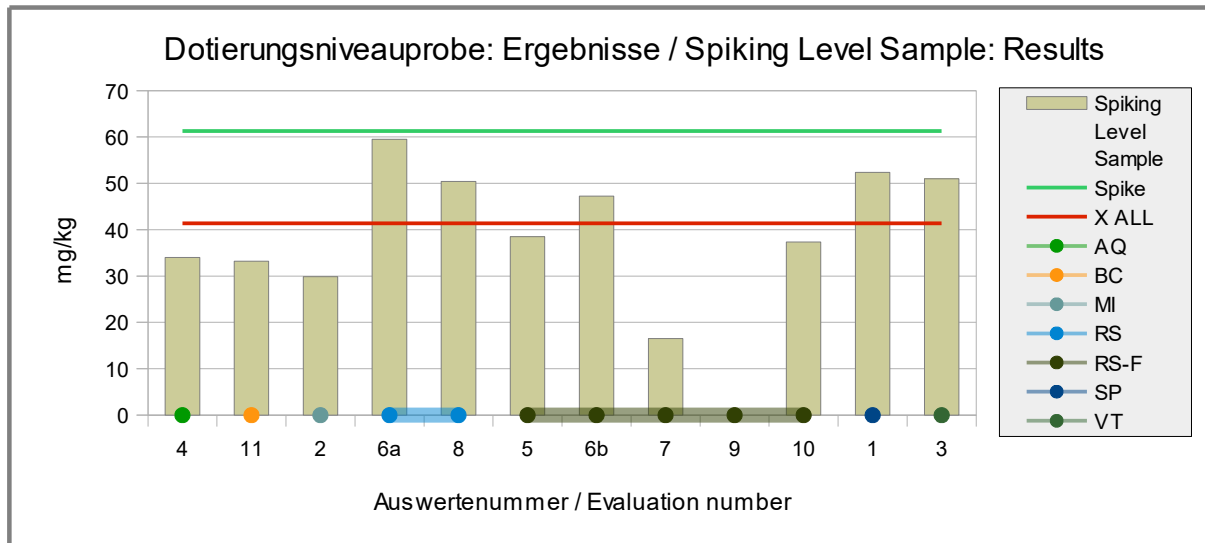
<b>Kenndaten</b>	<b>Alle Ergebnisse</b> [mg/kg]
Zugewiesener Wert ( $X_{pt}$ )	$X_{pt\_ALL}$
Anzahl der Messergebnisse	11
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	40,9
Median	38,5
<b>Robuster Mittelwert (<math>X_{pt}</math>)</b>	<b>41,4</b>
<b>Robuste Standardabweichung (<math>S^*</math>)</b>	<b>13,0</b>
<i>Zielkenndaten:</i>	
<b>Zielstandardabweichung <math>\sigma_{pt}</math></b>	<b>10,3</b>
<b>Untere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>20,7</b>
<b>Obere Grenze des Zielbereichs</b>	<b>62,1</b>
Quotient $S^*/\sigma_{pt}$	1,3
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,91
Ergebnisse im Zielbereich	10
Prozent im Zielbereich	91

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

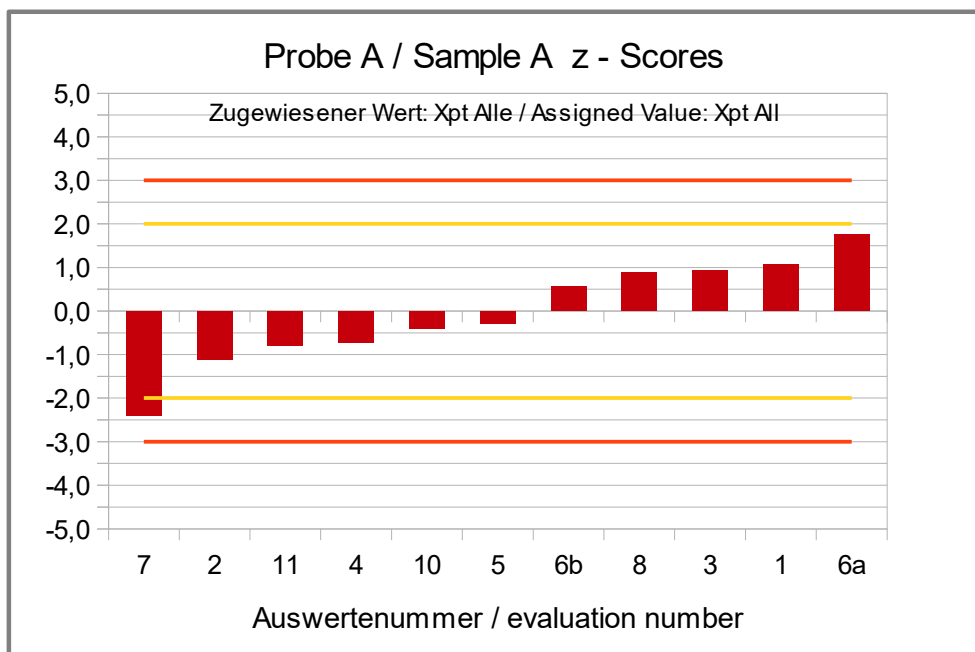
Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden 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 68% vom Zusatzniveau von Eiklar zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.36 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Eiklarprotein").



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



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

**Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Eiklarprotein:  
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe		Wiederfindungsrate*		Probe A		Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]				
4	34,0	<b>55</b>	-1,8	23,0	43	-2,3	AQ			
11	33,2	<b>54</b>	-1,8	18,2	34	-2,6	BC			
2	29,9	49	-2,0	28,2	<b>53</b>	-1,9	MI	Ergebnis umgerechnet °		
6a	59,5	<b>97</b>	-0,11	45,4	<b>85</b>	-0,59	RS			
8	50,4	<b>82</b>	-0,71	37,3	<b>70</b>	-1,2	RS	Ergebnis umgerechnet °		
5	38,5	<b>63</b>	-1,5	34,1	<b>64</b>	-1,4	RS-F			
6b	47,3	<b>77</b>	-0,92	36,9	<b>69</b>	-1,2	RS-F			
7	16,5	27	-2,9	13,6	26	-3,0	RS-F			
9				24,9	47	-2,1	RS-F	Ergebnis umgerechnet °		
10	37,3	<b>61</b>	-1,6	23,9	45	-2,2	RS-F	Ergebnis umgerechnet °		
1	52,4	<b>85</b>	-0,58	45,6	<b>86</b>	-0,57	SP	Ergebnis umgerechnet °		
3	51,0	<b>83</b>	-0,67	39,8	<b>75</b>	-1,0	VT	Ergebnis umgerechnet °		

° Umrechnung S. 18

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	<b>9</b>	Anzahl im AB	<b>7</b>
Prozent im AB	<b>82</b>	Prozent im AB	<b>58</b>

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- MI = Morinaga Institute ELISA
- RS = Ridascreen®, R-Biopharm
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

82% (9) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 58% (7) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.2.2 ELISA-Ergebnisse: Lysozym

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		
2	positiv	0,500	negativ	<0,05	2/2 (100%)	RS-F	
6	positiv	0,610	negativ	<0,05	2/2 (100%)	RS-F	
7	positiv	0,470	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
1	positiv	0,430	negativ	< 0,013	2/2 (100%)	SP	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	4	0
Anzahl negativ	0	4
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm  
 SP= SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Einzelergebnisse vorlagen. Alle Ergebnisse lagen jedoch innerhalb von ± 50% vom Mittelwert der Teilnehmerergebnisse (0,503 mg/kg).

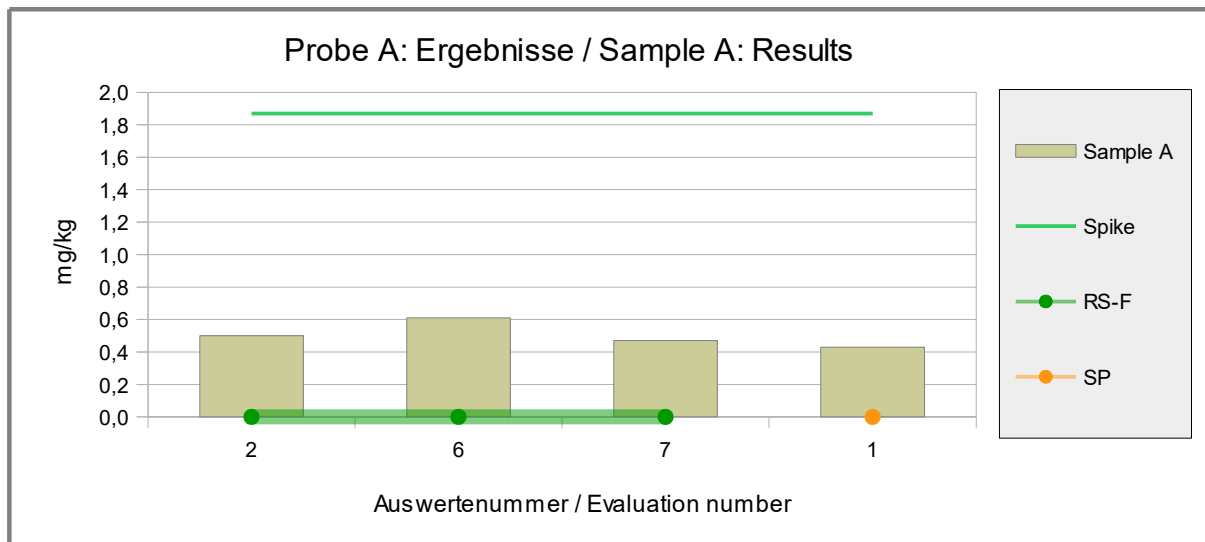


Abb./Fig. 14:

ELISA-Ergebnisse Lysozym  
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)  
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe**

Eine Auswertung der quantitativen Ergebnisse erfolgte nicht, weil zu wenige Einzelergebnisse vorlagen. Alle Ergebnisse lagen jedoch innerhalb von  $\pm 50\%$  vom Mittelwert der Teilnehmerergebnisse (0,678 mg/kg).

Auswertenummer	Lysozym pos/neg	Lysozym [mg/kg]	z-Score Xpt <sub>ALL</sub>	Methode	Hinweis
2	positiv	0,630		RS-F	
6	positiv	0,860		RS-F	
7	positiv	0,640		RS-F	
1	positiv	0,582		SP	

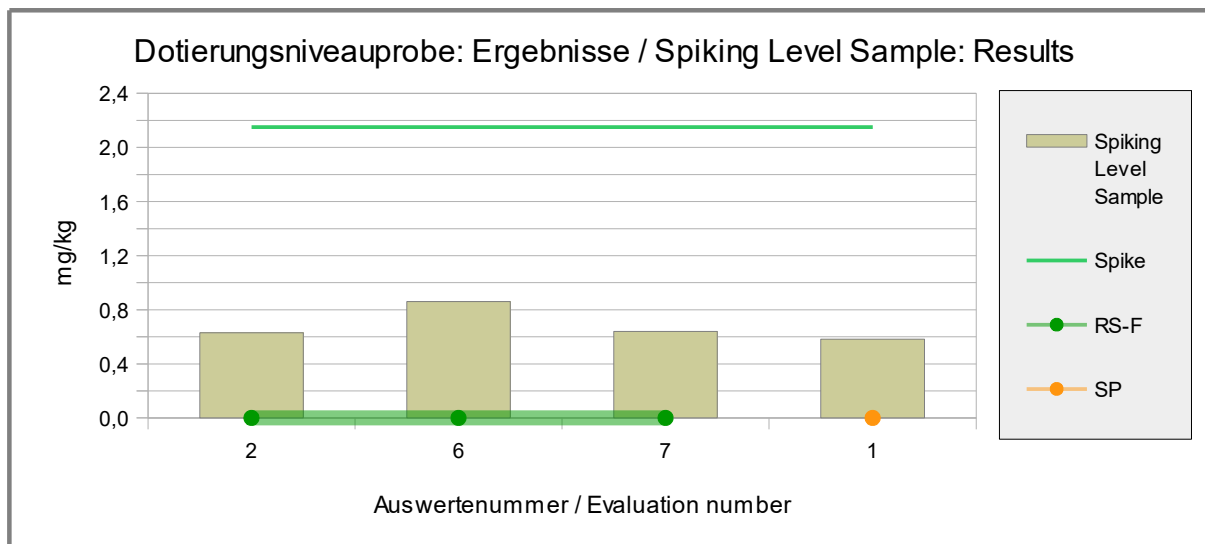
Anzahl positiv	4
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

**Methoden:**

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.



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

**Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Lysozym:  
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]	[mg/kg]	[%]	[Z <sub>RR</sub> ]		
2	0,630	29	-2,8	0,500	27	-2,9	RS-F	
6	0,860	40	-2,4	0,610	33	-2,7	RS-F	
7	0,640	30	-2,8	0,470	25	-3,0	RS-F	
1	0,582	27	-2,9	0,430	23	-3,1	SP	

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

**Methoden:**

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

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

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Keiner der Teilnehmer hat mit der Dotierungsniveauprobe oder mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe A mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Es ist zu beachten, dass sich die Bezugsgröße für Lysozym auf Literaturangaben des Gehalts im Eiklarprotein bezieht (s.S.5).

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 Casein: Xpt (div. Methoden)		ELISA Eiklarprotein: Xpt (div. Methoden)		ELISA Eiklarprotein: Xpt (Methode: RS-F)
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A
1	0,94	0,54	1,9	1,1	-
2	1,1	0,30	-0,35	-1,1	-
3	-0,82	0,28	1,1	0,92	-
4 / 4a	-1,8	0,24	-1,0	-0,71	-
4b	-1,2	-0,65	-	-	-
5	2,5	-	0,41	-0,28	1,1
6 / 6a	0,19	0,90	1,9	1,8	-
6b	-	-	0,77	0,57	1,5
7	-	-	-2,2	-2,4	-2,0
8 / 8a	1,5	-0,54	0,83	0,87	-
8b	-	-	-	-	-
9	-1,9	-	-0,78	-	-0,27
10	-0,46	0,01	-0,90	-0,39	-0,41
11	-	-1,4	-1,6	-0,79	-

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

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

Auswertenummer	ELISA Casein: Xpt (div. Methoden)		ELISA Eiklarprotein: Xpt (div. Methoden)		ELISA Lysozym: Xpt (div. Methoden)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1	0,26	0,35	-0,57	-0,58	-3,1	-2,9
2	0,42	0,11	-1,9	-2,0	-2,9	-2,8
3	-1,3	0,10	-1,0	-0,67	-	-
4 / 4a	-2,1	0,06	-2,3	-1,8	-	-
4b	-1,6	-0,80	-	-	-	-
5	1,6	4,2	-1,4	-1,5	-	-
6 / 6a	-0,39	0,69	-0,59	-0,11	-2,7	-2,4
6b	-	-	-1,2	-0,92	-	-
7	-	-	-3,0	-2,9	-3,0	-2,8
8 / 8a	0,71	-0,69	-1,2	-0,71	-	-
8b	5,2	4,6	-	-	-	-
9	-2,2	-	-2,1	-	-	-
10	-0,95	-0,16	-2,2	-1,6	-	-
11	-3,9	-1,5	-2,6	-1,8	-	-

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: Casein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											
AQ-C	4a	09.03.20	positiv	30	negativ	<LOD	positiv	75	0,04	0,2	40	Casein	ELISA Test-Kit + Anbieter AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ-C	11	04.05.20	positiv	1,3	negativ	<0.2	positiv	46,4	0,2	0,2	50	Casein	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs
AQ-M	4b	16.03.20	positiv	48	negativ	<LOD	positiv	74	0,05	0,4	50	Milchproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs
IL	10	28.02.20	positiv	49	negativ		positiv	71	0,05	0,4		Caseinat	Immunolab Milk ELISA
MH-I	2	25.02.	positiv	71	negativ	<0,25	positiv	76	0,25	0,25		Casein	Morinaga Casein ELISA Kit II (M2113)
RS-FC	5	17.03.20	positiv	89,9	negativ		positiv	152	0,5	0,5	25	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FC	6	12.03.20	positiv	57,97	negativ	<0,5	positiv	86,68	0,12	0,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FC	8a	26.03.20	-	75,59	-	<2.5	-	61,13	2,5	2,5		Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FC	9	24.04.20	positiv	29,51	negativ		-		0,5	0,5	45,22	Casein	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-FM	8b	26.03.20	-	184,37	-	<2.5	-	198,94	2,5	2,5		Milchproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm
SP	1	18.02.20	positiv	77,02	negativ	<0.2	positiv	90,36				Casein+BLG	SENSISpec Milk ELISA
VT	3	05.03.20	153		0,4		263					Vollmilchpulver	Auswahl Milch-Kits: Neogen

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ-C	4a			ja	
AQ-C	11	Casein	0.5g Probe / 10ml Extraktionspuffer (erhitzt auf 60°C)	ja	
AQ-M	4b			ja	
IL	10			ja	
MH-I	2	erkennt Kuhmilch-Casein	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-FC	5	Casein		ja	
RS-FC	6	Casein	Allergeneextraktionspuffer: 10 min 60°C Allergeneextraktionspuffer: 10 min 60°C	nein	
RS-FC	8a	Gemäß Kitanleitung	Gemäß Kitanleitung	ja	
RS-FC	9			ja	
RS-FM	8b	Gemäß Kitanleitung	Gemäß Kitanleitung	ja	
SP	1				
VT	3	Antikörper	15 min / 60°C	nein	

5.1.2 ELISA: Eiklarprotein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											ELISA Test-Kit + Anbieter
AQ	4	20.03.20	positiv	23	negativ	<LOD	positiv	34	0,05	0,4	40	Eiklarproteine, gesamt	AgraQuant ELISA Egg White COKAL0848, RomerLabs
BC	11	06.05.20	positiv	18,2	negativ	<0,4	positiv	33,2	0,4	0,4	50	Eiklarproteine, gesamt	BioCheck ELISA Egg-Check
MI	2	24.2.	positiv	51	negativ	<0,31	positiv	54	0,31	0,31		Volleiprotein	Morinaga Ei ELISA Kit (M2111)
RS	6a	12.03.20	positiv	45,43	negativ	<0,07	positiv	59,52	0,04	0,07		Eiklarproteine, gesamt	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS	8	26.03.20	-	141,95	-	<0,5	-	191,78	0,5	0,5		Volleipulver	andere: Bitte ausfüllen!
RS-F	5	20.03.20	positiv	34,1	negativ		positiv	38,5	0,5	0,5	21	Eiklarproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	6b	12.03.20	positiv	36,89	negativ	<0,13	positiv	47,25	0,03	0,13		Eiklarproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Ei / Egg R6402, R-Biopharm
RS-F	7	13.03.20	-	13,6	negativ		-	16,5	0,03	0,13		Eiklarproteine, gesamt	RIDASCREEN FAST Ei , R-Biopharm R6402
RS-F	9	24.02.20	positiv	94,74	negativ		-		0,5	0,5	31,53	Volleipulver	andere: bitte eingeben!
RS-F	10	17.03.20	positiv	91	negativ		positiv	142	0,1	0,5		Volleipulver	Ridascreen FAST Ei/Egg Protein
SP	1	21.02.20	positiv	34,22	negativ	< 0.013	positiv	39,28				Ovalbumin	SENSISpec Ovalbumin ELISA
VT	3	12.03.20		153		0		196				Volleipulver	Auswahl Ei-Kits: Neogen

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	4			ja	
BC	11	Ovomucoid	0.5g Probe / 10ml Extraktionspuffer / 15min / 60°C	ja	
MI	2	erkennt das Eiklarprotein Ovalbumin	lt. Herstellerangaben	ja	
RS	6a	Ovalbumin / Ovomukid	Allergeneextraktionspuffer mit Magermilchpulver: 10 min 60°C Allergeneextraktionspuffer mit Magermilchpulver: 10 min 60°C	nein	
RS	8	Gemäß Kitanleitung	Gemäß Kitanleitung	nein	verwendetes Kit: Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS-F	5	Eiklar-Proteine		ja	
RS-F	6b	Ovalbumin / Ovomukid	Allergeneextraktionspuffer: 10 min 60°C Allergeneextraktionspuffer: 10 min 60°C	nein	
RS-F	7	Ovalbumin, Ovomuroid aus Eiklar	Nach Vorgabe Hersteller	ja	DT
RS-F	9			ja	Ridascreen FAST Ei R6402
RS-F	10			ja	
SP	1				
VT	3	Antikörper	15 min / 60°C	nein	

5.1.3 ELISA: Lysozym

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
		Tag/Monat											
RS-F	2	11.03.	positiv	0,5	negativ	<0,05	positiv	0,63	0,2	0,05		Lysozym	r-biopharm Test-Combination R6452
RS-F	6	12.03.20	positiv	0,61	negativ	<0,05	positiv	0,86	0,006	0,05		Lysozym	Ridascreen® FAST Lysozym R6452, R-Biopharm
RS-F	7	09.03.20	-	0,47	negativ		-	0,64	0,006	0,05		Lysozym	RIDASCREEN FAST Lysozym, R-Biopharm R6452
SP	1	21.02.20	positiv	0,43	negativ	< 0.013	positiv	0,582				Lysozym	SENSISpec Lysozyme ELISA

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
RS-F	2	erkennt Lysozym	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	6	Lysozym	Allergeneextraktionspuffer mit Gelatine: 10 min 60°C Allergeneextraktionspuffer mit Gelatine: 10 min 60°C	nein	
RS-F	7	Lysozym aus Hühnerei	Nach Vorgabe Hersteller	ja	JGE
SP	1				

## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA -ptAL09 Dotierunsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,02	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,5	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,29	57	21,6
2	5,08	56	22,0
3	5,08	74	29,1
4	5,22	67	25,7
5	5,28	67	25,4
6	5,11	54	21,1
7	4,97	64	25,8
8	5,19	57	22,0

#### Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	62,0	Partikel
Standardabweichung	7,30	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	6,02	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>54</b>	%
Wiederfindungsrate	107	%

#### Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	24,1	mg/kg
Standardabweichung	2,83	mg/kg
rel. Standardabweichung	11,8	%
Horwitz Standardabweichung	9,9	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>1,2</b>	
Wiederfindungsrate	107	%

### 5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	<b>ptAL09 - 2020</b>
EP-Name	<b>Allergene IX: Milch (Casein) und Eiklarprotein in Wein</b>
Probenmatrix (Prozessierung)	<b>Proben A + B: Rosé Bio-Wein (vegan) / Cabernet Sauvignon Rosato (Italien) und Allergene Lebensmittel (Magermilchpulver, Eiklarpulver) (eine der beiden Proben)</b> <b>Dotierungsniveauprobe: Glucose und Allergene Lebensmittel (Magermilchpulver, Eiklarpulver)</b>
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 50 ml + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A + B: gekühlt 2 - 10 °C Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur
Verwendungszweck	<b>Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)</b>
Parameter	qualitativ + quantitativ: Milch (Casein), Eiklarprotein (Ovalbumin, Lysozym) Proben A + B: < 500 mg/kg (Lysozym < 5 mg/kg) Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg (Lysozym < 5 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 Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Am besten wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert (hier Umschwenken/Rühren).
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 27. März 2020</b>
Auswertebericht	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
Koordinator und Ansprechpartner der EP	Alexandra Scharf, M.Sc.

\* 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
		GROSSBRITANNIEN
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		ÖSTERREICH

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

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

## 7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung – Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment – General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 – 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 – 196 (2006)
12. AMC Kernel Density – Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. Codex Alimentarius Commission (2010) – Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
19. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by immunological methods – Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by molecular biological methods – Part 1: General considerations
21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel – Nachweis von Lebensmittelallergenen – Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs – Detection of food allergens – General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a

- collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (*Glycine max* L.) and wheat gluten (*Triticum aestivum* L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
  26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling 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. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (*Bos domesticus*), Besler M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, <http://www.food-allergens.de>
  30. Peñas et al. (2015) Allergenic Proteins in Enology: A Review on Technological Applications and Safety Aspects, Molecules 2015, 20, 13144-13164
  31. Restani et al. (2012) Validation by a Collaborative Interlaboratory Study of an ELISA Method for the Detection of Caseinate Used as a Fining Agent in Wine, Food Anal. Methods (2012) 5:480-486
  32. Restani et al. (2014) Collaborative Interlaboratory Studies for the Validation of ELISA Methods for the Detection of Allergenic Fining Agents Used in Wine According to the Criteria of OIV Resolution 427-2010 Modified by OIV-Comex 502-2012, Food Anal. Methods (2014) 7:706-712
  33. RESOLUTION OIV/OENO 427/2010 + 502-2012: CRITERIA FOR THE METHODS OF QUANTIFICATION OF POTENTIALLY ALLERGENIC RESIDUES OF FINING AGENT PROTEINS IN WINE, International Organisation of Vine and Wine 2010 / 2012
  34. Lacorn et al. (2014) Collaborative Tests of ELISA Methods for the Determination of Egg White Protein and Caseins Used as Fining Agents in Red and White Wines, Food Anal. Methods (2014) 7:417-429
  35. Allergen Data Collection - Update (2000): Hen's Egg White (*Gallus domesticus*), Barkholt V., Besler M., Sampson H.A., Internet Symposium on Food Allergens 2 (Suppl.1): 1-29, <http://www.food-allergens.de>
  36. Belitz H.D., Grosch W., Schieberle P., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 6. Aufl., Springer-Verlag, Berlin 2008 [Textbook of food chemistry, 6th edition]

### DLA ptAL09 - Allergene IX

Alle 11 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte für ELISA-Methoden hinsichtlich der Parameter Casein und Eiklarprotein qualitativ und quantitativ und für Lysozym aufgrund der wenigen Ergebnisse nur qualitativ. Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

4 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Österreich, Schweiz).