



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL04 (2021)

Allergene IV:

Sellerie, Senf und Sesam

in Mayonnaise

DLA - Proficiency Tests GmbH

Hauptstr. 80

23845 Oering/Germany

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

Koordinator der LVU:

Dr. Matthias Besler-Scharf

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

| | |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><i>EP-Anbieter PT-Provider</i></p> | <p>DLA - Proficiency Tests GmbH Hauptstr. 80, 23845 Oering, 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> |
| <p><i>EP-Nummer PT-Number</i></p> | <p>DLA ptAL04 (2021)</p> |
| <p><i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i></p> | <p>Dr. Matthias Besler-Scharf</p> |
| <p><i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i></p> | <p>Abschlussbericht / Final report (26. Oktober 2021)</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> |
| <p><i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i></p> | <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: 26. Oktober 2021</p> |
| <p><i>Unteraufträge Subcontractors</i></p> | <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> |
| <p><i>Vertraulichkeit Confidentiality</i></p> | <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> |
| <p><i>Akkreditierung Accreditation</i></p> | <p>nach / according to: ISO/IEC 17.043-2010</p> <p>Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen Conformity Assessment - General Requirements for Proficiency Testing</p> <p>Die Akkreditierung gilt für den in der Urkundenanlage genannten Umfang. The accreditation is valid for the scope of the annex to the certificate of accreditation</p> |



Inhalt

| | |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Einleitung..... | 4 |
| 2. Durchführung..... | 4 |
| 2.1 Untersuchungsmaterial..... | 4 |
| 2.1.1 Homogenität..... | 6 |
| 2.1.2 Stabilität..... | 9 |
| 2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung..... | 10 |
| 2.3 Ergebnisübermittlung..... | 10 |
| 3. Auswertung..... | 11 |
| 3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)..... | 11 |
| 3.2 Robuste Standardabweichung..... | 12 |
| 3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer..... | 12 |
| 3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)..... | 13 |
| 3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz..... | 13 |
| 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision..... | 13 |
| 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen..... | 16 |
| 3.5 z-Score..... | 17 |
| 3.5.1 Warn- und Eingriffssignale..... | 17 |
| 3.6 z'-Score..... | 18 |
| 3.7 Quotient S^*/opt | 18 |
| 3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit..... | 18 |
| 3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte..... | 19 |
| 3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung..... | 19 |
| 4. Ergebnisse..... | 20 |
| 4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie..... | 22 |
| 4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)..... | 22 |
| 4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)..... | 22 |
| 4.2 Vergleichsuntersuchung Senf..... | 27 |
| 4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba)..... | 27 |
| 4.2.2 PCR-Ergebnisse: Senf (Sinapis alba)..... | 37 |
| 4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam..... | 42 |
| 4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam..... | 42 |
| 4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam..... | 52 |
| 4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle..... | 57 |
| 5. Dokumentation..... | 59 |
| 5.1 Angaben der Teilnehmer..... | 59 |
| 5.1.1 ELISA: Senf..... | 59 |
| 5.1.2 ELISA: Sesam..... | 61 |
| 5.1.3 PCR: Sellerie..... | 63 |
| 5.1.4 PCR: Senf..... | 65 |
| 5.1.5 PCR: Sesam..... | 67 |
| 5.2 Homogenität..... | 69 |
| 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung..... | 69 |
| 5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)..... | 70 |
| 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge..... | 71 |
| 7. Verzeichnis relevanter Literatur..... | 72 |

1. Einleitung

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

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

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

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

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

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

Nach Homogenisieren der Grundmischung wurde die **dotierte Probe B** folgendermaßen hergestellt:

Die Dotierungsmaterialien, die die allergenen Zutaten Sellerie, Senf und Sesam enthalten, wurden mittels Zentrifugalmühle gesiebt (mesh 250 µm), dann zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 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 in PE-Behälter mit Schraubdeckel und die Dotierungsniveauprobe in Portionen von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

| Zutaten | Probe A | Probe B | Dotierungs- niveauprobe |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------|----------------------------|
| Mayonnaise Zutaten: 50% Rapsöl, Wasser, Branntweinessig, Zucker, Eigelb, Weizenstärke, Salz, mo- difizierte Stärke, Verdickungsmittel: Xanthan, Guarkernmehl, Natriumalginat, Säureregulator: Natriumacetat, natürli- ches Aroma Nährwertangaben pro 100 g: Fett 51 g, Kohlenhydrate 7,0 g, Eiweiß 0,5 g, Salz 2,1 g | 100 g/100 g | 99,7 g/100g | - |
| Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100 | - | - | 99,8 g/100 g |
| <i>Selleriesamen</i> , gemahlen - als Sellerie* - davon 20,0% Gesamtprotein** | - | 47,8 mg/kg 9,55 mg/kg | 37,2 mg/kg 7,45 mg/kg |
| <i>Senfkörner, gelb (Sinapis alba)</i> gemahlen, Mischung aus 9 Produkten (Europa, Asien) - als Senf* - davon 30,7% Gesamtprotein** | - | 50,1 mg/kg 15,4 mg/kg | 48,9 mg/kg 15,0 mg/kg |
| <i>Sesam, weiß (Sesamum indicum)</i> gemahlen, Mischung aus 10 Produkten (Afrika, Asien, Südamerika) - als Sesam* - davon 24,5% Gesamtprotein** | - | 47,5 mg/kg 11,6 mg/kg | 33,9 mg/kg 8,30 mg/kg |
| <i>weitere Zutaten:</i> Maltodextrin, Natriumsulfat und Siliciumdioxid | - | <0,3 g/100 g | <0,3 g/100 g |

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

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

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Da keine pastösen Proben wie die Probenmatrix B mit der Microtracer-Analyse untersucht werden können, wurde nur die pulverförmige Dotierungsniveauprobe untersucht. Die Microtracer-Analyse hat eine Wahrscheinlichkeit von 78% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurde ein HorRat-Wert von 1,1 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe B

Durchführung der Homogenitätstests

Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Labors zur Analyse zugeschickt (Ausnahme: Morinaga Kit II von DLA durchgeführt). Die Einwaagen wurden mit einer Abweichung von $\pm 10\%$ von der Solleinwaage der Testkit-Anleitung vorgenommen und den Labors nicht mitgeteilt. Nach Übersendung der 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 sowohl für Senf (Immunolab, Veratox und AgraQuant) als auch für Sesam (Immunolab, Morinaga und AgraQuant) erfüllt (s. Seite 7). Die Anforderung an Wiederholstandardabweichungen von ELISA- und PCR-Verfahren ist üblicherweise $\leq 25\%$ [18, 19, 22, 23].

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

ELISA-Tests: Homogenität Senf / Homogeneity Mustard

Immunolab Mustard ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Mustard 71,8 ± 8,4 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 57,6 | 66,8 | 62,2 |
| 2 | 74,1 | 73,8 | 73,9 |
| 3 | 62,3 | 58,1 | 60,2 |
| 4 | 100,6 | 82,7 | 91,6 |
| 5 | 68,2 | 66,1 | 67,2 |
| 6 | 73,0 | 76,0 | 74,5 |
| 7 | 80,7 | 74,2 | 77,5 |
| 8 | 68,4 | 84,9 | 76,6 |
| 9 | 61,6 | 69,0 | 65,3 |
| 10 | 59,3 | 78,4 | 68,9 |

General average X: 71,8
 SD of sample means Sx: 9,18 (12,8%)
 SD within-samples Sw: 5,40 (7,5%)
 SD between-samples Ss: 8,35 (11,6%)

Veratox Mustard ELISA

Sample weights: 5,0 g (4,5 – 5,5 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Mustard 69,1 ± 4,2 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 54,5 | 72,6 | 63,5 |
| 2 | 72,0 | 65,0 | 68,5 |
| 3 | 70,1 | 66,1 | 68,1 |
| 4 | 75,3 | 75,0 | 75,1 |
| 5 | 54,5 | 78,9 | 66,7 |
| 6 | 61,2 | 76,3 | 68,7 |
| 7 | 69,6 | 81,2 | 75,4 |
| 8 | 62,5 | 76,4 | 69,5 |
| 9 | 74,7 | 69,7 | 72,2 |
| 10 | 55,8 | 70,3 | 63,0 |

General average X: 69,1
 SD of sample means Sx: 4,22 (6,1%)
 SD within-samples Sw: 6,65 (9,6%)
 SD between-samples Ss: < 4,22 (< 6,1%)

AgraQuant Mustard ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Mustard 85,7 ± 4,2 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 77,1 | 77,5 | 77,3 |
| 2 | 85,1 | 91,4 | 88,2 |
| 3 | 80,1 | 83,3 | 81,7 |
| 4 | 83,8 | 79,5 | 81,7 |
| 5 | 88,0 | 95,0 | 91,5 |
| 6 | 85,8 | 79,2 | 82,5 |
| 7 | 89,1 | 93,8 | 91,5 |
| 8 | 85,5 | 90,7 | 88,1 |
| 9 | 74,6 | 92,5 | 83,6 |
| 10 | 90,7 | 90,5 | 90,6 |

General average X: 85,7
 SD of sample means Sx: 4,95 (5,8%)
 SD within-samples Sw: 3,65 (4,3%)
 SD between-samples Ss: 4,22 (4,9%)

ELISA-Tests: Homogenität Sesam / Homogeneity Sesame

Immunolab Sesame ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame 56,4 ± 3,3 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 56,4 | 62,5 | 59,5 |
| 2 | 72,6 | 55,7 | 64,2 |
| 3 | 46,0 | 66,6 | 56,3 |
| 4 | 52,5 | 59,9 | 56,2 |
| 5 | 62,7 | 46,5 | 54,6 |
| 6 | 52,2 | 58,3 | 55,3 |
| 7 | 52,6 | 56,1 | 54,3 |
| 8 | 44,9 | 64,7 | 54,8 |
| 9 | 51,5 | 53,9 | 52,7 |
| 10 | 58,7 | 53,9 | 56,3 |

General average X: 56,4
 SD of sample means Sx: 3,25 (5,8%)
 SD within-samples Sw: 6,19 (11,0%)
 SD between-samples Ss: <3,25 (<5,8%)

Morinaga Sesame ELISA Kit II

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame protein 11,4 ± 0,73 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 9,51 | 10,2 | 9,85 |
| 2 | 11,8 | 10,9 | 11,4 |
| 3 | 11,8 | 10,7 | 11,2 |
| 4 | 12,6 | 13,0 | 12,8 |
| 5 | 11,2 | 11,1 | 11,2 |
| 6 | 10,8 | 11,0 | 10,9 |
| 7 | 11,0 | 10,5 | 10,8 |
| 8 | 13,5 | 11,3 | 12,4 |
| 9 | 11,5 | 10,3 | 10,9 |
| 10 | 14,3 | 10,5 | 12,4 |

General average X: 11,4
 SD of sample means Sx: 0,904 (7,9%)
 SD within-samples Sw: 0,764 (6,7%)
 SD between-samples Ss: 0,725 (6,4%)

AgraQuant Sesame ELISA

Sample weights: 1,0 g (0,9 – 1,1 g)
 Number of replicates: 2
 Overall result: Sesame 52,3 ± 1,4 mg/kg

| Sample B | Subsample 1 mg/kg | Subsample 2 mg/kg | Mean mg/kg |
|----------|-------------------|-------------------|------------|
| 1 | 52,4 | 59,6 | 56,0 |
| 2 | 48,2 | 52,5 | 50,4 |
| 3 | 51,2 | 49,9 | 50,5 |
| 4 | 51,9 | 49,2 | 50,6 |
| 5 | 54,3 | 53,1 | 53,7 |
| 6 | 52,6 | 54,0 | 53,3 |
| 7 | 50,8 | 53,2 | 52,0 |
| 8 | 52,1 | 51,9 | 52,0 |
| 9 | 54,1 | 52,3 | 53,2 |
| 10 | 51,1 | 52,1 | 51,6 |

General average X: 52,3
 SD of sample means Sx: 1,77 (3,4%)
 SD within-samples Sw: 1,53 (2,9%)
 SD between-samples Ss: 1,40 (2,7%)

2.1.2 Stabilität

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Mayonnaise, die aufgrund von Wärmebehandlung und des geringen pH-Wertes einige Monate lang haltbar ist. Die Lagerstabilität bzw. Haltbarkeit der Proben (mikrobieller Verderb) ist somit erfahrungsgemäß während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

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

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

Der a_w -Wert der Dotierungsniveauprobe lag bei ca. $0,32$ ($22,4^\circ\text{C}$). 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 21. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsmaterialprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 23. Juli 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 **Sellerie**, **Senf** und **Sesam** im mg/kg Bereich in der Matrix Mayonnaise. 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.*

Hinweis: Bei Ankunft die Proben bitte kühl lagern (2 - 10°C)

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.

Von 30 Teilnehmern haben 29 Teilnehmer mindestens ein Ergebnis abgegeben. Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse eingereicht.

3. Auswertung

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

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

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

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

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

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

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

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

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

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

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

3.2 Robuste Standardabweichung

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

Folgende robuste Standardabweichungen werden herangezogen:

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

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

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

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

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

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

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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

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

Tabelle 4: PCR-Validierungskriterien

| Literatur [18] | Wiederfindungsrate | Wiederholstandardabweichung | Vergleichsstandardabweichung |
|--------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| CAC 2010 | ± 25% ^(a) | ≤ 25% | ≤ 35% |

(a) = Trueness / Richtigkeit

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

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

3.5 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

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

3.5.1 Warn- und Eingriffssignale

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

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

3.6 z'-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.5.1.

3.7 Quotient S*/ σ_{pt}

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

3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit

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

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

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

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

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

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

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

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

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

4. Ergebnisse

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

4.1 Vergleichsuntersuchung Sellerie

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Anmerkung:

Es wurden keine ELISA-Bestimmungen von den Teilnehmern durchgeführt.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Sellerie (Selleriesamen)

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|---------|----------------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | | | |
| 8 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | ASU | |
| 9 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | ASU | |
| 1 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | CEN | |
| 20 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | CEN | |
| 10 | negativ | | positiv | 0,16 | 2/2 (100%) | FP | |
| 15 | negativ | <0,1 | positiv | <0,8 | 2/2 (100%) | FP | |
| 17 | negativ | < 0,080 | positiv | 0,58 | 2/2 (100%) | FP | |
| 3 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | IM | |
| 7 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 16 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 21 | negativ | - | positiv | - | 2/2 (100%) | SFA | |
| 18a | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 4 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA-4p | |
| 12 | negativ | < 0,4 | positiv | | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 27 | negativ | <1 | positiv | 25,4 | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 18b | negativ | | negativ | | 1/2 (50%) | div | keine Positivprobe identifiziert |
| 22 | positiv | | negativ | | 0/2 (0%) | div | Proben verwechselt? |
| 25 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 26 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 1 | 17 |
| Anzahl negativ | 18 | 2 |
| Prozent positiv | 5 | 89 |
| Prozent negativ | 95 | 11 |
| Konsenswert | negativ | positiv |

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = European Committee for Standardization Method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

IM = Imegen

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

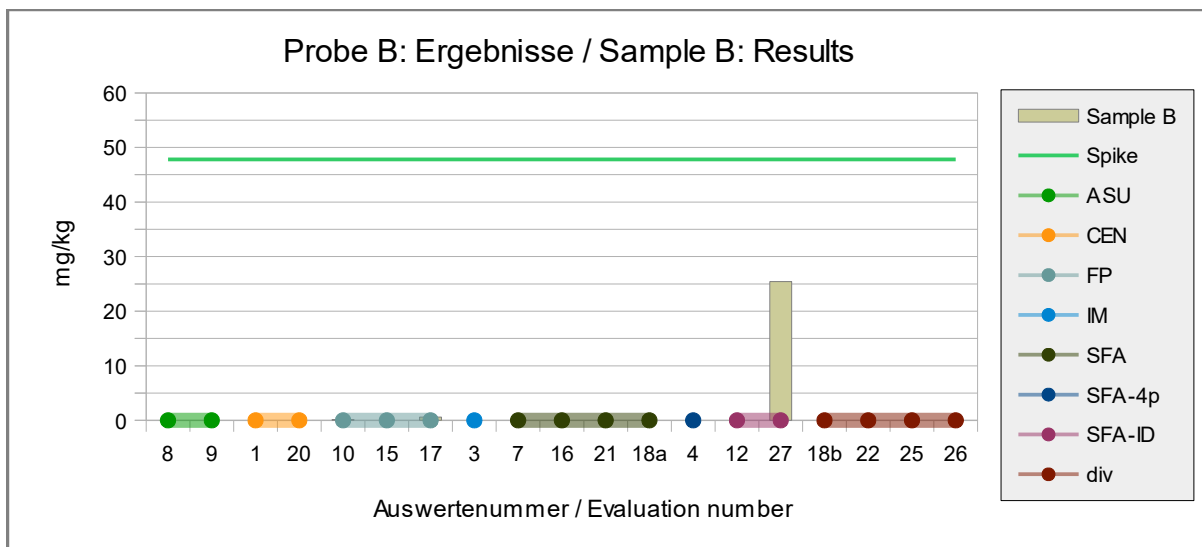


Abb./Fig. 1: PCR-Ergebnisse Sellerie
grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Sellerie | Sellerie | z-Score Xpt _{ALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|----------|----------|-------------------------------|---------|---------|
| | pos/neg | [mg/kg] | | | |
| 8 | positiv | | | ASU | |
| 9 | positiv | | | ASU | |
| 1 | positiv | | | CEN | |
| 20 | positiv | | | CEN | |
| 10 | positiv | 0,82 | | FP | |
| 15 | positiv | <0,8 | | FP | |
| 17 | positiv | 3,1 | | FP | |
| 3 | positiv | | | IM | |
| 7 | positiv | | | SFA | |
| 16 | positiv | | | SFA | |
| 21 | positiv | - | | SFA | |
| 18a | positiv | | | SFA | |
| 4 | positiv | | | SFA-4p | |
| 12 | positiv | | | SFA-ID | |
| 27 | positiv | 20,5 | | SFA-ID | |
| 18b | negativ | | | div | |
| 22 | positiv | | | div | |
| 25 | positiv | | | div | |
| 26 | positiv | | | div | |

| | | |
|-----------------|---------|--|
| Anzahl positiv | 18 | |
| Anzahl negativ | 1 | |
| Prozent positiv | 95 | |
| Prozent negativ | 5 | |
| Konsenswert | positiv | |

Methoden:

- ASU = ASU §64 Methode/method
- CEN = European Committee for Standardization Method
- FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics
- IM = Imegen
- SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
- SFA-4p = Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
- SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
- div = keine genaue Angabe / andere Methode
- div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 95% positive Ergebnisse erhalten.

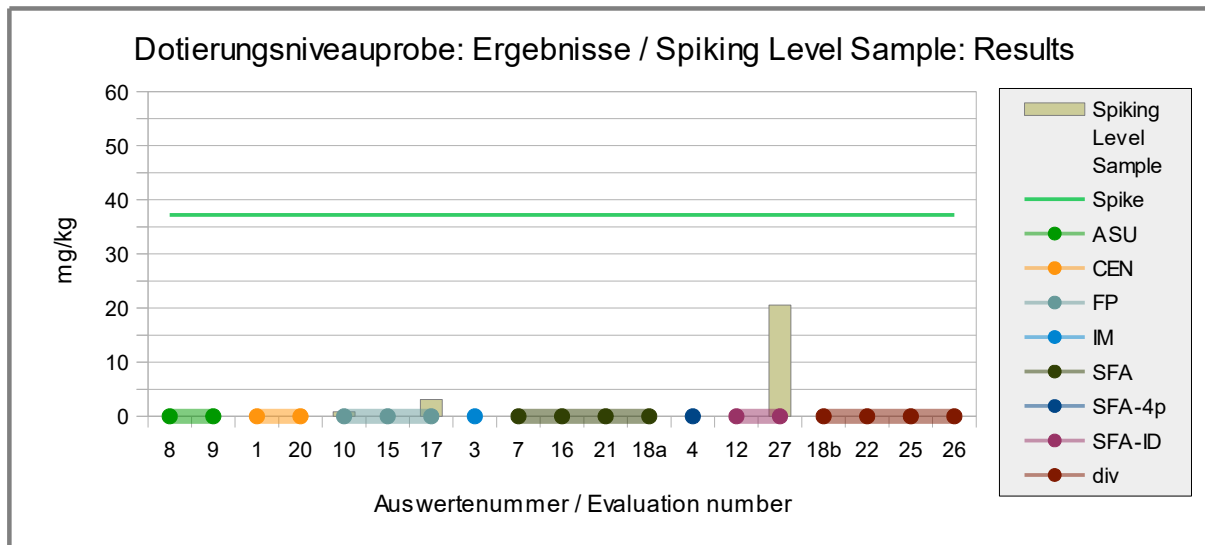


Abb./Fig. 2: PCR-Ergebnisse Sellerie
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | | | Probe B | | | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|-----|--------------------|---------|-----|--------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | | |
| 8 | | | | | | | ASU | |
| 9 | | | | | | | ASU | |
| 1 | | | | | | | CEN | |
| 20 | | | | | | | CEN | |
| 10 | 0,82 | 2,2 | -3,9 | 0,16 | 0,3 | -4,0 | FP | |
| 15 | <0,8 | | | <0,8 | | | FP | |
| 17 | 3,1 | 8,3 | -3,7 | 0,58 | 1,2 | -4,0 | FP | |
| 3 | | | | | | | IM | |
| 7 | | | | | | | SFA | |
| 16 | | | | | | | SFA | |
| 21 | - | | | - | | | SFA | |
| 18a | | | | | | | SFA | |
| 4 | | | | | | | SFA-4p | |
| 12 | | | | | | | SFA-ID | |
| 27 | 20,5 | 55 | -1,8 | 25,4 | 53 | -1,9 | SFA-ID | |
| 18b | | | | | | | div | |
| 22 | | | | | | | div | |
| 25 | | | | | | | div | |
| 26 | | | | | | | 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: Selleriesamen, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Celery seed, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = European Committee for Standardization Method

FP = foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics

IM = Imegen

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Einer von 3 Teilnehmern hat sowohl mit der Dotierungsniveauprobe als auch mit der dotierten Lebensmittelmatrix-Probe B mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2 Vergleichsuntersuchung Senf

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | Übereinstimmungen mit Konsenswerten | | |
| 15 | negativ | <2 | positiv | 71,3 | 2/2 (100%) | AQ | |
| 13 | negativ | <2 | positiv | 51,4 | 2/2 (100%) | BC | |
| 23 | negativ | <2 | positiv | 40,7 | 2/2 (100%) | BC | |
| 17 | negativ | < 6,5 | positiv | 39,1 | 2/2 (100%) | IL | Ergebnis umgerechnet ° |
| 12 | negativ | <2 | positiv | 28,7 | 2/2 (100%) | OS | |
| 2 | negativ | <0,5 | positiv | >13,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 8 | negativ | < 0,5 | positiv | 11,4 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 10 | negativ | <LOQ | positiv | 20,4 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 16 | negativ | <0,5 | positiv | >13,5 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 18 | negativ | <0.5 | positiv | 81,2 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 19 | negativ | <0.50 | positiv | 49,9 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 20 | negativ | | positiv | 67,1 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 21 | negativ | < 1,6 | positiv | 167 | 2/2 (100%) | RS-F | Ergebnis umgerechnet ° |
| 27 | negativ | <0.5 | positiv | 79,2 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 5 | negativ | <2.0 | positiv | 34,9 | 2/2 (100%) | SP | |
| 9 | negativ | <2 | positiv | 73,0 | 2/2 (100%) | SP | |
| 29 | negativ | <1 | positiv | 95,0 | 2/2 (100%) | SP | |
| 6 | negativ | <2.5 | positiv | 76,9 | 2/2 (100%) | VT | |
| 11 | negativ | <1.0 | positiv | 66,1 | 2/2 (100%) | VT | |
| 14 | negativ | < 2.5 | positiv | 65,0 | 2/2 (100%) | VT | |
| 24 | negativ | <2.5 | positiv | 75,0 | 2/2 (100%) | VT | |
| 26 | negativ | <2.5 | positiv | 74,0 | 2/2 (100%) | VT | |

° Umrechnung S. 20

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 0 | 22 |
| Anzahl negativ | 22 | 0 |
| Prozent positiv | 0 | 100 |
| Prozent negativ | 100 | 0 |
| Konsenswert | negativ | positiv |

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 IL = Immunolab
 OS = Orsell
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

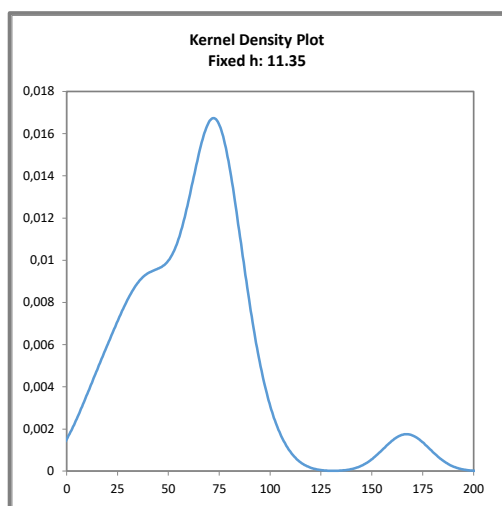
Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

| Auswertenummer | Senf [mg/kg] | z-Score Xpt _{ALL} | z-Score Xpt _{RS-F} | z-Score Xpt _{VT} | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|---------|------------------------|
| 15 | 71,3 | 0,71 | | | AQ | |
| 13 | 51,4 | -0,60 | | | BC | |
| 23 | 40,7 | -1,3 | | | BC | |
| 17 | 39,1 | -1,4 | | | IL | Ergebnis umgerechnet ° |
| 12 | 28,7 | -2,1 | | | OS | |
| 2 | >13,5 | | | | RS-F | |
| 8 | 11,4 | -3,2 | -3,3 | | RS-F | |
| 10 | 20,4 | -2,7 | -2,7 | | RS-F | |
| 16 | >13,5 | | | | RS-F | |
| 18 | 81,2 | 1,4 | 1,1 | | RS-F | |
| 19 | 49,9 | -0,70 | -0,84 | | RS-F | |
| 20 | 67,1 | 0,44 | 0,25 | | RS-F | |
| 21 | 167 | 7,0 | 6,6 | | RS-F | Ergebnis umgerechnet ° |
| 27 | 79,2 | 1,2 | 1,0 | | RS-F | |
| 5 | 34,9 | -1,7 | | | SP | |
| 9 | 73,0 | 0,83 | | | SP | |
| 29 | 95,0 | 2,3 | | | SP | |
| 6 | 76,9 | 1,1 | | 0,31 | VT | |
| 11 | 66,1 | 0,37 | | -0,30 | VT | |
| 14 | 65,0 | 0,30 | | -0,36 | VT | |
| 24 | 75,0 | 0,96 | | 0,20 | VT | |
| 26 | 74,0 | 0,89 | | 0,15 | VT | |

° Umrechnung S. 20



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- IL = Immunolab
- OS = Orsell
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 3:

Kerndichte-Schätzung aller ELISA-Ergebnisse (mit $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$ von X_{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. 75 mg/kg mit einer Schulter und einem kleinen Nebenpeak.

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

| Kenndaten | Alle Ergebnisse [mg/kg] | Methode RS-F [mg/kg] | Methode VT [mg/kg] |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | $X_{pt_{ALL}}$ | $X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$ | $X_{pt_{METHOD\ VT}}$ |
| Anzahl der Messergebnisse | 20 | 7 | 5 |
| Anzahl der Ausreißer | – | 0 | 0 |
| Mittelwert | 63,4 | 68,0 | 71,4 |
| Median | 66,6 | 67,1 | 74,0 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 60,5 | 63,1 | 71,4 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 26,7 | 46,6 | 6,20 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 15,1 | 15,8 | 17,9 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 30,3 | 31,6 | 35,7 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 90,8 | 94,7 | 107 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 1,8 | 3,0 | 0,35 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 7,45 | 22,0 | 3,50 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 15 | 4 | 5 |
| Prozent im Zielbereich | 75 | 57 | 100 |

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

VT = Veratox, Neogen

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und von Methode VT zeigten eine normale bis geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0 bzw. 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die methodenübergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die Auswertung der Ergebnisse von Methode RS-F zeigte eine erhöhte Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag deutlich über 2,0. Die Auswertung wurde informativ durchgeführt. Auf eine Auswertung mittels z'-Score unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit wurde verzichtet, da hierbei der Zielbereich ungeeignet groß werden würde.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 121%, 126% bzw. 143% vom Zusatzniveau von Senf zu Probe B, innerhalb bzw. im oberen Bereich der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.36 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Senf").

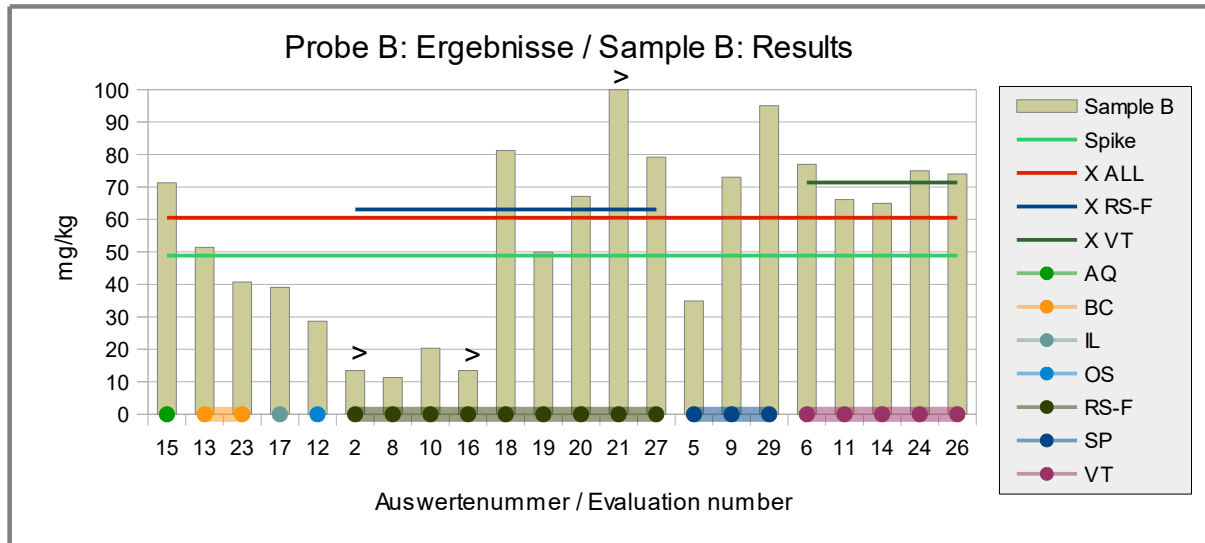


Abb./Fig. 4: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode VT
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

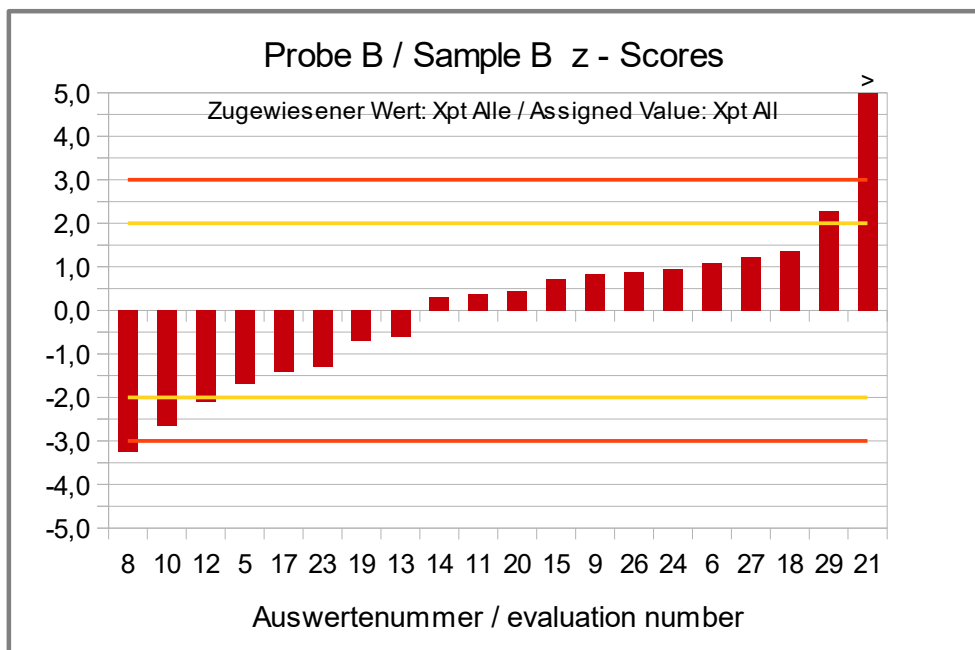


Abb./Fig. 5:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Senf)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

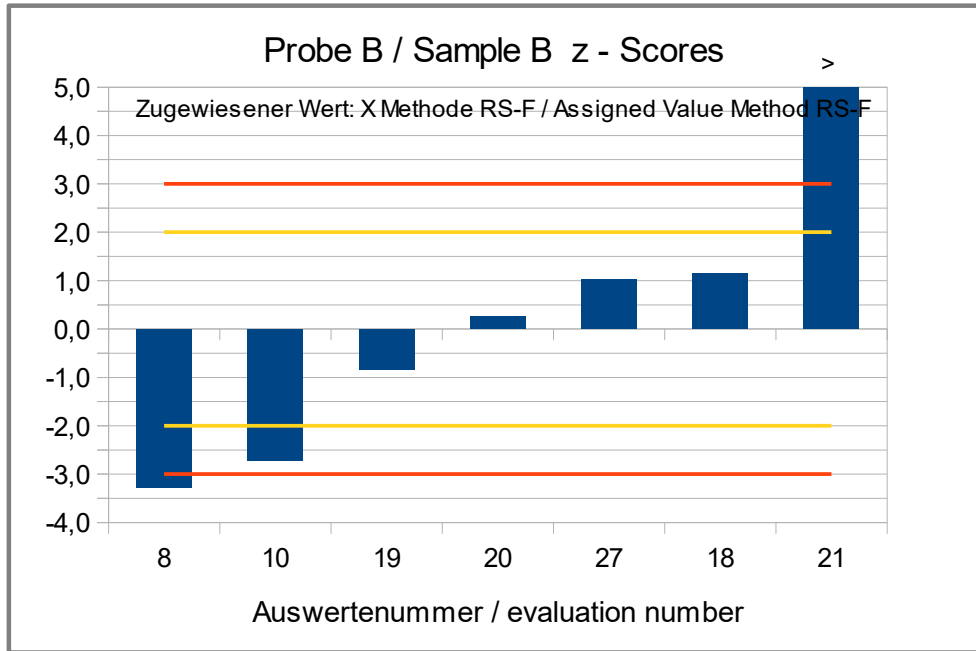


Abb./Fig. 6:

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

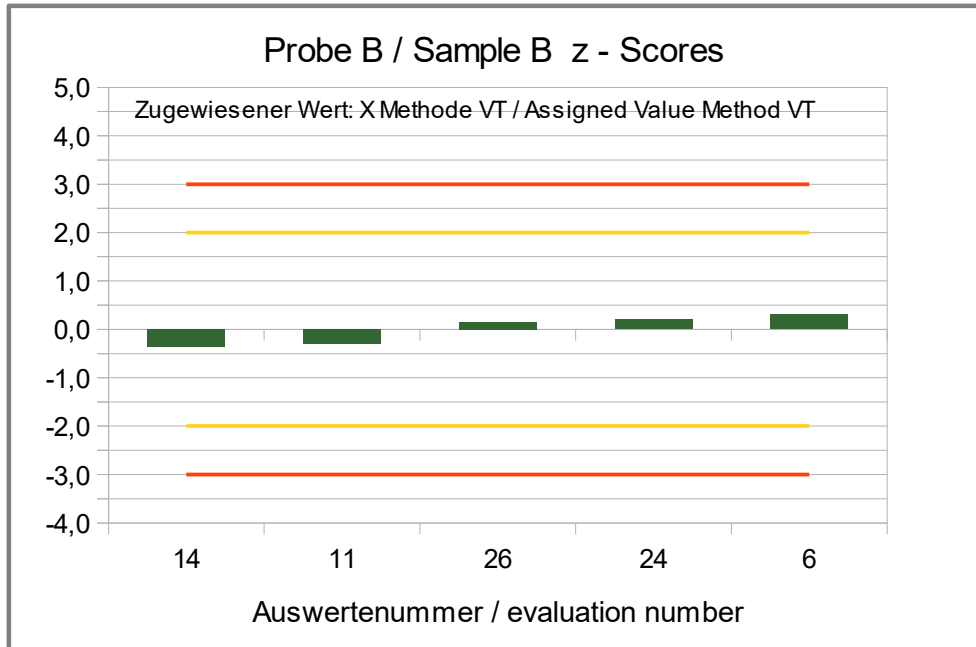


Abb./Fig. 7:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

| Auswertenummer | Senf | Senf | z-Score X _{pt,ALL} | z-Score X _{pt,RS-F} | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|-----------------------------|------------------------------|---------|------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | | | | |
| 15 | positiv | 75,5 | -0,03 | | AQ | |
| 13 | positiv | 71,3 | -0,25 | | BC | |
| 23 | | | | | BC | |
| 17 | positiv | 189 | 5,9 | | IL | Ergebnis umgerechnet ° |
| 12 | positiv | > 60 | | | OS | |
| 2 | positiv | >13,5 | | | RS-F | |
| 8 | positiv | 11,3 | -3,4 | -3,1 | RS-F | |
| 10 | positiv | 19,7 | -3,0 | -2,4 | RS-F | |
| 16 | positiv | >13,5 | | | RS-F | |
| 18 | positiv | 57,0 | -1,0 | 0,66 | RS-F | |
| 19 | positiv | 36,3 | -2,1 | -1,0 | RS-F | |
| 20 | positiv | 66,6 | -0,50 | 1,5 | RS-F | |
| 21 | positiv | 199 | 6,5 | 12 | RS-F | Ergebnis umgerechnet ° |
| 27 | positiv | 51,5 | -1,3 | 0,21 | RS-F | |
| 5 | positiv | 123 | 2,4 | | SP | |
| 9 | positiv | 77,0 | 0,05 | | SP | |
| 29 | positiv | 97,0 | 1,1 | | SP | |
| 6 | positiv | 81,1 | 0,27 | | VT | |
| 11 | | | | | VT | |
| 14 | positiv | 81,0 | 0,26 | | VT | |
| 24 | positiv | 72,9 | -0,17 | | VT | |
| 26 | positiv | 96,0 | 1,0 | | VT | |

° Umrechnung S. 20

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- IL = Immunolab
- OS = Orsell
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

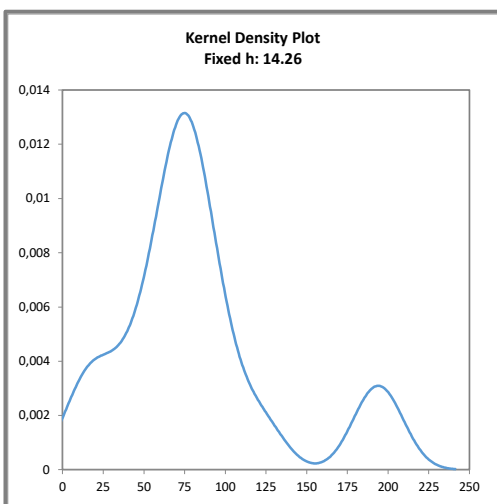


Abb. / Fig. 8:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter und einem kleinen Nebenpeak.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Senf**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 | 17 | 7 |
| Anzahl der Ausreißer | - | - |
| Mittelwert | 82,6 | 63,0 |
| Median | 75,5 | 51,5 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 76,0 | 48,9 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 39,5 | 34,0 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 19,0 | 12,2 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 38,0 | 24,4 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 114 | 73,3 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 2,1 | 2,8 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 12,0 | 16,1 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 11 | 4 |
| Prozent im Zielbereich | 65 | 57 |

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden und der Methode RS-F zeigten eine leicht erhöhte bzw. erhöhte Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen über 2,0 bzw. für die Methode RS-F deutlich über 2,0. Die Auswertung wurde für RS-F daher nur informativ durchgeführt. Auf eine Auswertung mittels z'-Score unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit wurde verzichtet, da hierbei der Zielbereich ungeeignet groß werden würde.

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 155% bzw. 100% vom Zusatzniveau von Senf zur Dotierungsniveauprobe oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.36 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Senf").

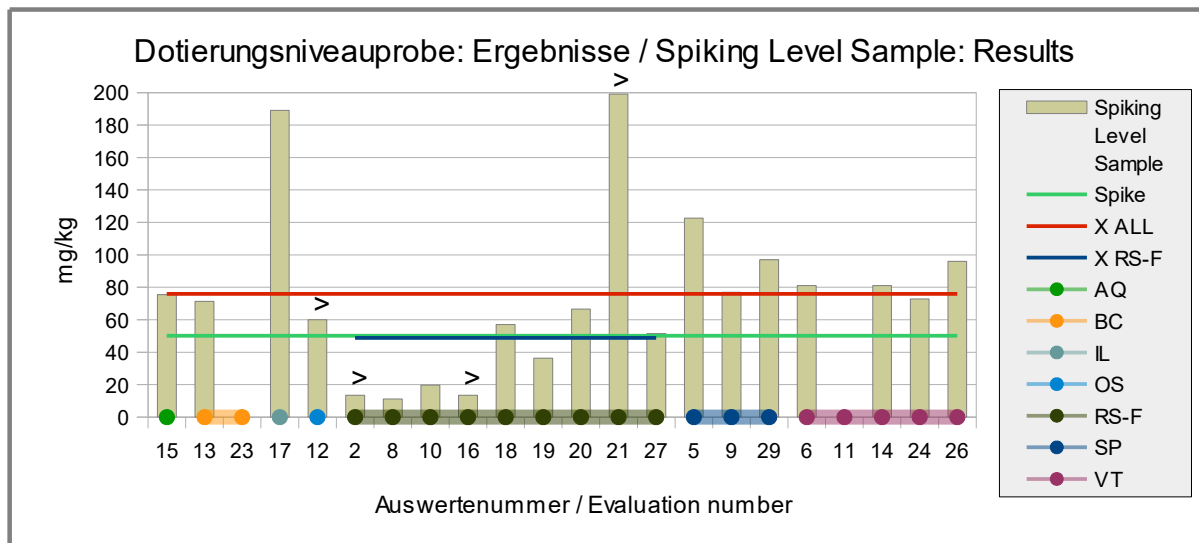


Abb./Fig. 9: ELISA-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

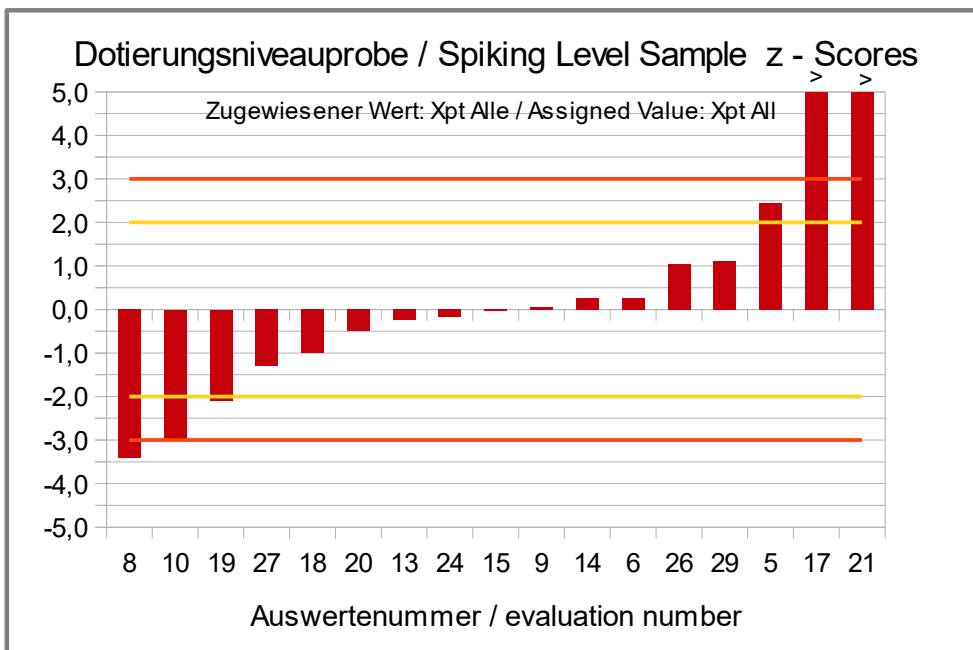


Abb./Fig. 10:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse Senf)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

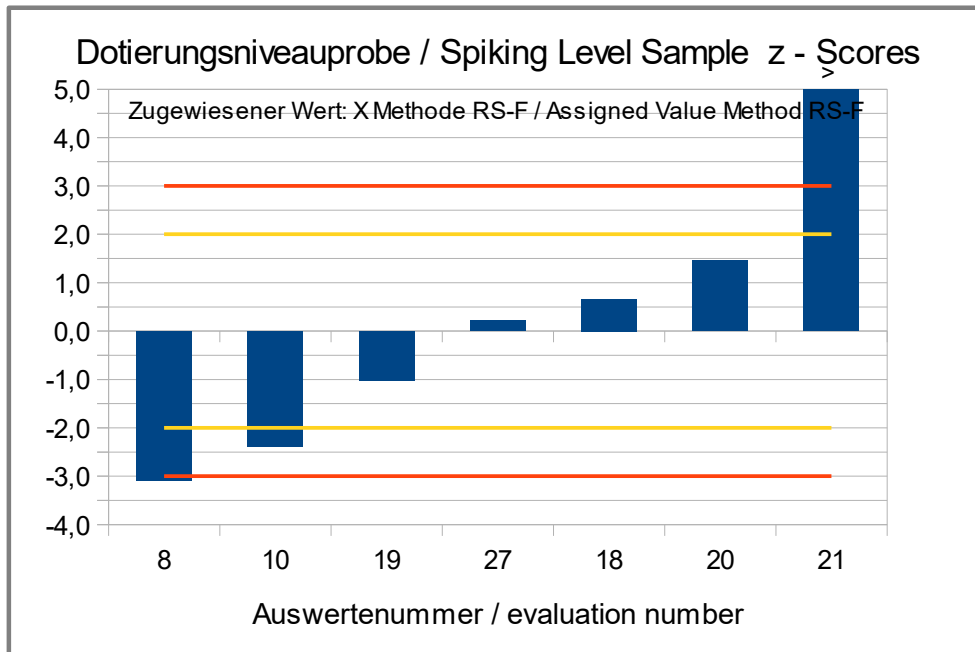


Abb./Fig. 11:

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

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

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | | Wiederfindungsrate* | | Probe B | | Wiederfindungsrate* | | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|------------|---------------------|---------|------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | | | | |
| 15 | 75,5 | 151 | 2,0 | 71,3 | 146 | 1,8 | AQ | | | |
| 13 | 71,3 | 142 | 1,7 | 51,4 | 105 | 0,20 | BC | | | |
| 23 | | | | 40,7 | 83 | -0,67 | BC | | | |
| 17 | 189 | 377 | 11 | 39,1 | 80 | -0,80 | IL | Ergebnis umgerechnet ° | | |
| 12 | > 60 | | | 28,7 | 59 | -1,7 | OS | | | |
| 2 | >13,5 | | | >13,5 | | | RS-F | | | |
| 8 | 11,3 | 22 | -3,1 | 11,4 | 23 | -3,1 | RS-F | | | |
| 10 | 19,7 | 39 | -2,4 | 20,4 | 42 | -2,3 | RS-F | | | |
| 16 | >13,5 | | | >13,5 | | | RS-F | | | |
| 18 | 57,0 | 114 | 0,55 | 81,2 | 166 | 2,6 | RS-F | | | |
| 19 | 36,3 | 72 | -1,1 | 49,9 | 102 | 0,09 | RS-F | | | |
| 20 | 66,6 | 133 | 1,3 | 67,1 | 137 | 1,5 | RS-F | | | |
| 21 | 199 | 397 | 12 | 167 | 342 | 9,7 | RS-F | Ergebnis umgerechnet ° | | |
| 27 | 51,5 | 103 | 0,11 | 79,2 | 162 | 2,5 | RS-F | | | |
| 5 | 123 | 245 | 5,8 | 34,9 | 71 | -1,1 | SP | | | |
| 9 | 77,0 | 154 | 2,1 | 73,0 | 149 | 2,0 | SP | | | |
| 29 | 97,0 | 194 | 3,7 | 95,0 | 194 | 3,8 | SP | | | |
| 6 | 81,1 | 162 | 2,5 | 76,9 | 157 | 2,3 | VT | | | |
| 11 | | | | 66,1 | 135 | 1,4 | VT | | | |
| 14 | 81,0 | 162 | 2,5 | 65,0 | 133 | 1,3 | VT | | | |
| 24 | 72,9 | 146 | 1,8 | 75,0 | 153 | 2,1 | VT | | | |
| 26 | 96,0 | 192 | 3,7 | 74,0 | 151 | 2,1 | VT | | | |

° Umrechnung S. 20

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|-----------|---------------|-----------|
| Anzahl im AB | 6 | Anzahl im AB | 11 |
| Prozent im AB | 35 | Prozent im AB | 55 |

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Mustard, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

IL = Immunolab

OS = Orsell

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

35% (6) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 55% (11) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich.

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

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

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | Übereinstimmungen mit Konsenswerten | | |
| 9 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | ASU | |
| 20 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | CEN | |
| 15 | negativ | - | positiv | - | 2/2 (100%) | GI | |
| 3 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 4 | negativ | | positiv | 39,9 | 2/2 (100%) | SFA | |
| 7 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 8 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 18 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 21 | negativ | - | positiv | - | 2/2 (100%) | SFA | |
| 12 | negativ | < 0,4 | positiv | | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 27 | negativ | <1 | positiv | 44,6 | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 6 | negativ | N/A | positiv | N/A | 2/2 (100%) | SFA-Q | |
| 1 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 22 | positiv | | negativ | | 0/2 (0%) | div | Probe verwechselt? |
| 25 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 26a | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 26b | negativ | | negativ | | 2/2 (100%) | div | Brassica-Arten negativ |
| 26c | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 1 | 16 |
| Anzahl negativ | 17 | 2 |
| Prozent positiv | 6 | 89 |
| Prozent negativ | 94 | 11 |
| Konsenswert | negativ | positiv |

Methoden:

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

Anmerkung:

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

Ein negatives Ergebnis für Probe B wurde mit einer für braunen und schwarzen Senf spezifischen Methode erhalten (Ergebnis 26b). Die Probe enthielt jedoch weißen/gelben Senf.

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

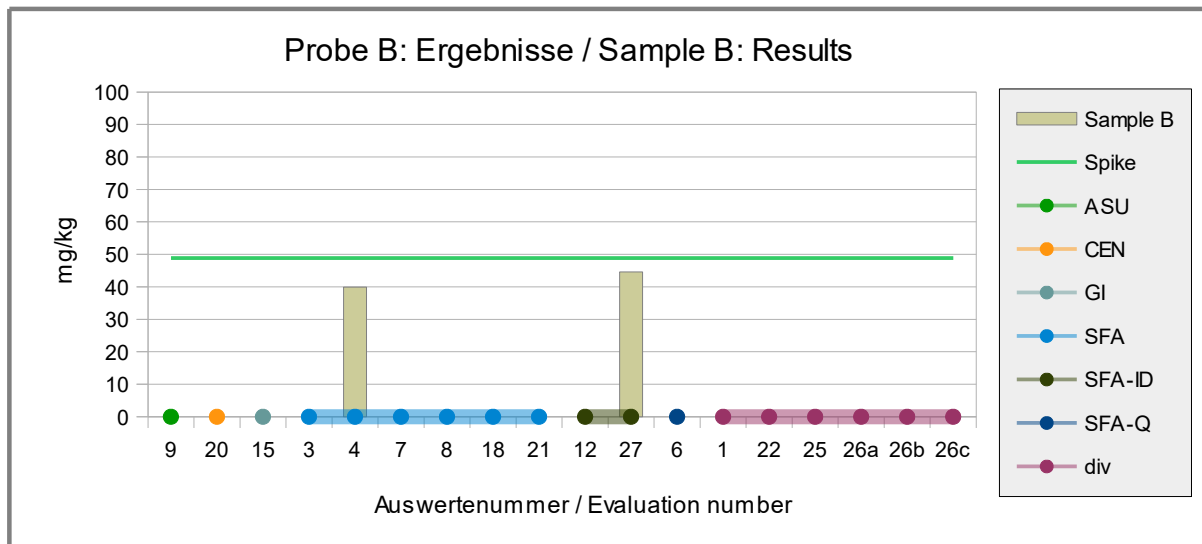


Abb./Fig. 12: PCR-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Senf | Senf | z-Score X _{pt,ALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|--------------------------------|---------|------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | | | |
| 9 | positiv | | | ASU | |
| 20 | positiv | | | CEN | |
| 15 | positiv | - | | GI | |
| 3 | positiv | | | SFA | |
| 4 | positiv | 12,0 | | SFA | |
| 7 | positiv | | | SFA | |
| 8 | positiv | | | SFA | |
| 18 | positiv | | | SFA | |
| 21 | positiv | - | | SFA | |
| 12 | positiv | | | SFA-ID | |
| 27 | positiv | 26,6 | | SFA-ID | |
| 6 | positiv | N/A | | SFA-Q | |
| 1 | positiv | | | div | |
| 22 | positiv | | | div | |
| 25 | positiv | | | div | |
| 26a | positiv | | | div | |
| 26b | negativ | | | div | Brassica-Arten negativ |
| 26c | positiv | | | div | |

| | | |
|-----------------|---------|--|
| Anzahl positiv | 17 | |
| Anzahl negativ | 1 | |
| Prozent positiv | 94 | |
| Prozent negativ | 6 | |
| Konsenswert | positiv | |

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = European Committee for Standardization Method

GI = GEN-IAL First Allergen

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurde ein negatives Ergebnis mit einer für braunen und schwarzen Senf spezifischen Methode erhalten. Die Probe enthielt jedoch weißen/gelben Senf.

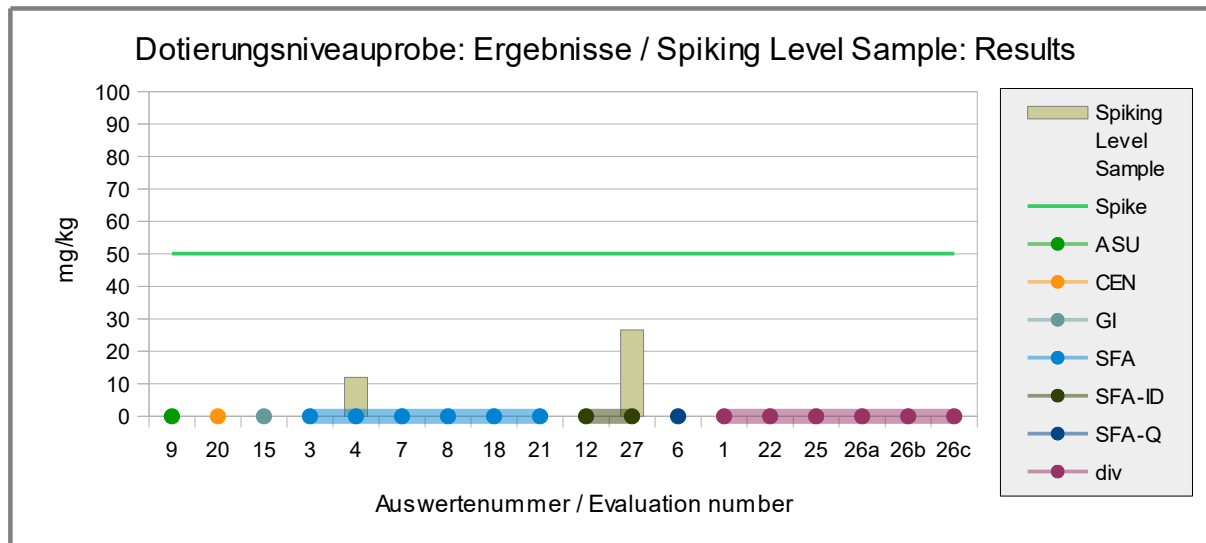


Abb./Fig. 13: PCR-Ergebnisse Senf
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | Wiederfindungsrate* | | Probe B | Wiederfindungsrate* | | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|---------------------|------------------------|---------|---------------------|------------------------|---------|------------------------|
| | | [mg/kg] | [%] [Z _{RR}] | | [mg/kg] | [%] [Z _{RR}] | | |
| 9 | | | | | | | ASU | |
| 20 | | | | | | | CEN | |
| 15 | - | | | | | | GI | |
| 3 | | | | | | | SFA | |
| 4 | 12,0 | 24 | -3,0 | 39,9 | 82 | -0,73 | SFA | |
| 7 | | | | | | | SFA | |
| 8 | | | | | | | SFA | |
| 18 | | | | | | | SFA | |
| 21 | - | | | | | | SFA | |
| 12 | | | | | | | SFA-ID | |
| 27 | 26,6 | 53 | -1,9 | 44,6 | 91 | -0,35 | SFA-ID | |
| 6 | N/A | | | N/A | | | SFA-Q | |
| 1 | | | | | | | div | |
| 22 | | | | | | | div | |
| 25 | | | | | | | div | |
| 26a | | | | | | | div | |
| 26b | | | | | | | div | Brassica-Arten negativ |
| 26c | | | | | | | div | |

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|----------|---------------|----------|
| Anzahl im AB | 1 | Anzahl im AB | 2 |
| Prozent im AB | 50 | Prozent im AB | 100 |

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Mustard, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

CEN = European Committee for Standardization Method

GI = GEN-IAL First Allergen

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm/ Congen

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

SFA-Q = Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm/ Congen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Einer von zwei Teilnehmern hat mit der Dotierungsniveauprobe mittels PCR eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen die Wiederfindungsraten beider Teilnehmer in diesem Akzeptanzbereich.

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

4.3 Vergleichsuntersuchung Sesam

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Sesam

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|----------------------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | Übereinstimmungen mit Konsenswerten | | |
| 15 | negativ | <2 | positiv | 44,2 | 2/2 (100%) | AQ | |
| 26a | negativ | <2.5 | positiv | 57,0 | 2/2 (100%) | AQ | |
| 23 | negativ | <2 | positiv | 42,1 | 2/2 (100%) | BC | |
| 27 | negativ | <2 | positiv | 47,1 | 2/2 (100%) | BC | |
| 13 | negativ | <2 | positiv | 47,8 | 2/2 (100%) | BK | |
| 11 | negativ | <0.51 | positiv | 51,0 | 2/2 (100%) | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 24 | negativ | <0.10 | positiv | 84,9 | 2/2 (100%) | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 10 | negativ | <LOQ | positiv | 24,8 | 2/2 (100%) | IL | |
| 8 | negativ | < 2 | positiv | 58,9 | 2/2 (100%) | NL | |
| 2 | negativ | <2,5 | positiv | >20 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 6 | negativ | <2.5 | positiv | 119 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 12 | negativ | < 2,5 | positiv | >20 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 14 | negativ | < 2.5 | positiv | 160 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 16 | negativ | <2,5 | positiv | >20 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 18 | negativ | <2.5 | positiv | 161 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 20 | negativ | | positiv | 105 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 26b | negativ | <2.5 | positiv | 125 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 27 | negativ | <2.5 | positiv | 141 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 28 | negativ | <2.5 | positiv | 150 | 2/2 (100%) | RS-F | |
| 5 | negativ | <2.0 | positiv | 47,0 | 2/2 (100%) | SP | |
| 9 | negativ | <2 | positiv | 54,0 | 2/2 (100%) | SP | |
| 25 | negativ | | positiv | >122 | 2/2 (100%) | SP | Ergebnis umgerechnet ° |
| 29 | negativ | <0.2 | positiv | 55,0 | 2/2 (100%) | SP | |
| 26c | negativ | <2.5 | negativ | <2.5 | 1/2 (50%) | VT | keine Positivprobe identifiziert |

° Umrechnung S. 20

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 0 | 23 |
| Anzahl negativ | 24 | 1 |
| Prozent positiv | 0 | 96 |
| Prozent negativ | 100 | 4 |
| Konsenswert | negativ | positiv |

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BK = BioKits, Neogen
 IL = Immunolab
 NL = nutrilinia® Allergen-ELISA
 RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe B

| Auswertenummer | Sesam | z-Score Xpt ₅₀ | z-Score Xpt _{RS-F} | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------------------------|-----------------------------|---------|------------------------|
| | [mg/kg] | | | | |
| 15 | 44,2 | -0,49 | | AQ | |
| 26a | 57,0 | 0,52 | | AQ | |
| 23 | 42,1 | -0,66 | | BC | |
| 27a | 47,1 | -0,27 | | BC | |
| 13 | 47,8 | -0,21 | | BK | |
| 11 | 51,0 | 0,05 | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 24 | 84,9 | 2,7 | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 10 | 24,8 | -2,0 | | IL | |
| 8 | 58,9 | 0,67 | | NL | |
| 2 | >20 | | | RS-F | |
| 6 | 119 | | -0,54 | RS-F | |
| 12 | >20 | | | RS-F | |
| 14 | 160 | | 0,66 | RS-F | |
| 16 | >20 | | | RS-F | |
| 18 | 161 | | 0,70 | RS-F | |
| 20 | 105 | | -0,94 | RS-F | |
| 26b | 125 | | -0,36 | RS-F | |
| 27b | 141 | | 0,10 | RS-F | |
| 28 | 150 | | 0,37 | RS-F | |
| 5 | 47,0 | -0,27 | | SP | |
| 9 | 54,0 | 0,28 | | SP | |
| 25 | >122 | | | SP | Ergebnis umgerechnet ° |
| 29 | 55,0 | 0,36 | | SP | |
| 26c | <2.5 | | | VT | |

° Umrechnung S. 20

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BK = BioKits, Neogen
- IL = Immunolab
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

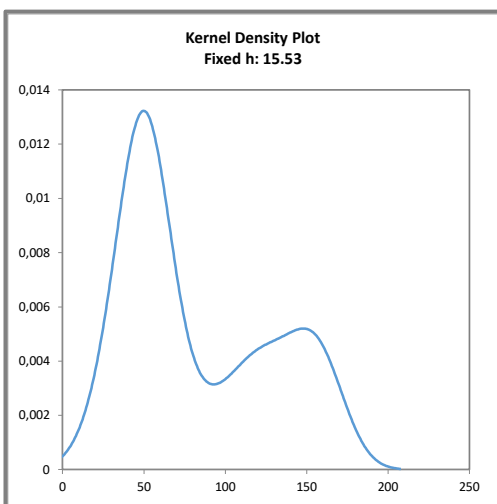


Abb. / Fig. 14:

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 annähernd symmetrischen Hauptpeak bei etwa 50 mg/kg und einen kleineren Peak bei ca. 137 mg/kg, der auf die Ergebnisse der Methode RS-F zurückgeht.

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

| Kenndaten | Methoden Peak 50 [mg/kg] | Methode RS-F [mg/kg] |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | $X_{pt_{50}}$ | $X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$ |
| Anzahl der Messergebnisse | 12 | 7 |
| Anzahl der Ausreißer | - | 0 |
| Mittelwert | 51,1 | 137 |
| Median | 49,4 | 141 |
| Robuster Mittelwert (X_{pt}) | 50,4 | 137 |
| Robuste Standardabweichung (S^*) | 8,41 | 24,5 |
| Zielkenndaten: | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 12,6 | 34,3 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 25,2 | 68,6 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 75,6 | 206 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 0,67 | 0,71 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 3,04 | 11,6 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 11 | 7 |
| Prozent im Zielbereich | 92 | 100 |

Methoden:

Peak 50 = AgraQuant, BioCheck, BioKits, ELISA Systems, Immunolab, nutriLinia®, SensiSpec
 RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine bimodale Verteilung der Ergebnisse. Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern eine Auswertung der Methoden, die den jeweiligen Peaks („Peak 50“ und „Peak 137“ = Methode RS-F) zuzuordnen sind (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Auswertungen der Ergebnisse von Peak 50 und der Methode RS-F zeigten jeweils eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 1,0. 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 106% bzw. 288% vom Zusatzniveau von Sesam zu Probe B, innerhalb bzw. weit oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.51 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Sesam").

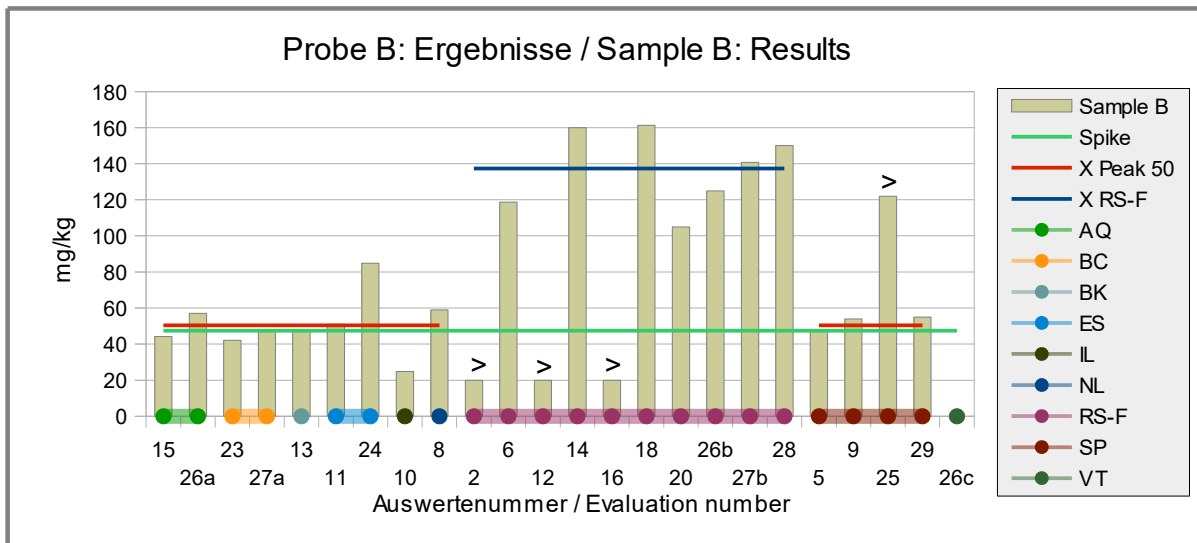


Abb./Fig. 15: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 50“
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

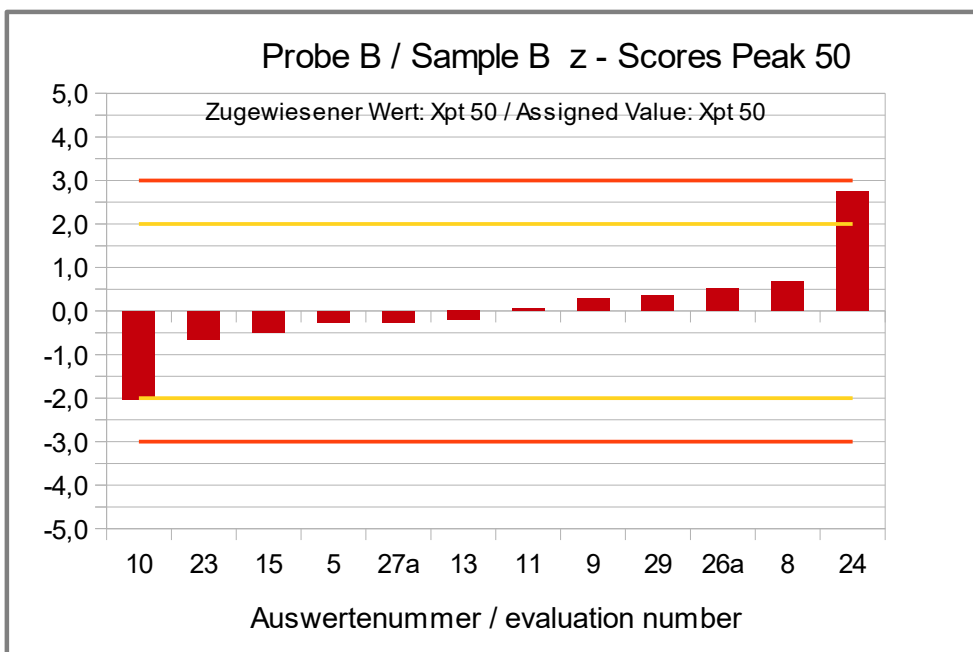


Abb./Fig. 16: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 50

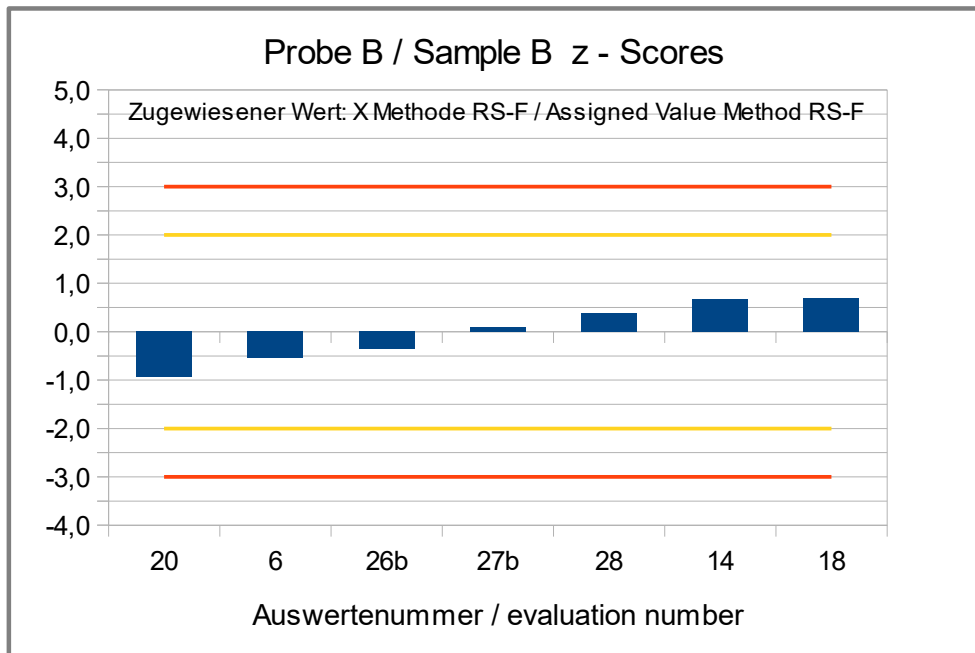


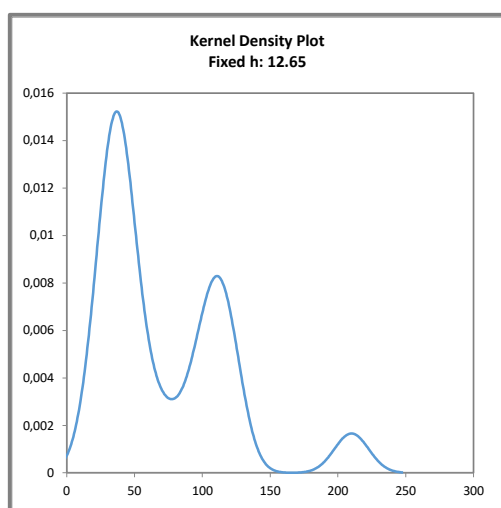
Abb./Fig. 17:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

| Auswertenummer | Sesam pos/neg | Sesam [mg/kg] | z-Score Xpt ₃₇ | z-Score Xpt ₁₁₀ | z-Score Xpt _{RS-F} | Methode | Hinweis |
|----------------|------------------|------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------|------------------------|
| 15 | positiv | 29,7 | -0,80 | | | AQ | |
| 26a | positiv | 40,0 | 0,31 | | | AQ | |
| 23 | positiv | 33,8 | -0,35 | | | BC | |
| 27a | positiv | 35,6 | -0,16 | | | BC | |
| 13 | positiv | 32,0 | -0,55 | | | BK | |
| 11 | | | | | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 24 | positiv | 58,0 | 2,3 | | | ES | Ergebnis umgerechnet ° |
| 10 | positiv | 45,4 | 0,89 | | | IL | |
| 8 | positiv | 39,4 | 0,25 | | | NL | |
| 2 | positiv | >20 | | | | RS-F | |
| 6 | positiv | 99,2 | | -0,40 | -0,38 | RS-F | |
| 12 | positiv | > 20 | | | | RS-F | |
| 14 | positiv | 210 | | 3,6 | 3,7 | RS-F | |
| 16 | positiv | >20 | | | | RS-F | |
| 18 | positiv | 120 | | 0,37 | 0,39 | RS-F | |
| 20 | positiv | 75,2 | | -1,3 | -1,3 | RS-F | |
| 26b | positiv | 100 | | -0,37 | -0,35 | RS-F | |
| 27b | positiv | 115 | | 0,17 | 0,19 | RS-F | |
| 28 | positiv | 111 | | 0,03 | 0,05 | RS-F | |
| 5 | positiv | 21,0 | -1,7 | | | SP | |
| 9 | positiv | 38,0 | 0,10 | | | SP | |
| 25 | positiv | >122 | | | | SP | Ergebnis umgerechnet ° |
| 29 | positiv | 40,0 | 0,31 | | | SP | |
| 26c | positiv | 116 | | 0,21 | | VT | |

° Umrechnung S. 20



Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BK = BioKits, Neogen
- IL = Immunolab
- NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
- RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Abb. / Fig. 18:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt zwei Peaks bei etwa 37 mg/kg und 110 mg/kg, die jeweils annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse aufweisen. Die höheren Werte („Peak 110“) gehen auf die Ergebnisse der Methoden RS-F und VT zurück und wurden deshalb separat ausgewertet. Zusätzlich ist der Peak eines Ergebnisses außerhalb des Zielbereichs vorhanden.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Sesam**Dotierungsniveauprobe**

| Kenndaten | Methoden Peak 37 [mg/kg] | Methoden Peak 110 [mg/kg] | Methode RS-F [mg/kg] |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|
| Zugewiesener Wert (X_{pt}) | $X_{pt_{37}}$ | $X_{pt_{110}}$ | $X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$ |
| Anzahl der Messergebnisse | 11 | 8 | 7 |
| Anzahl der Ausreißer | 0 | – | – |
| Mittelwert | 37,5 | 118 | 119 |
| Median | 38,0 | 113 | 111 |
| Robust Mean (X_{pt}) | 37,1 | 110 | 110 |
| Robuste Standardabweichung (S*) | 7,51 | 19,3 | 25,0 |
| <i>Zielkenndaten:</i> | | | |
| Zielstandardabweichung σ_{pt} | 9,27 | 27,6 | 27,4 |
| Untere Grenze des Zielbereichs | 18,5 | 55,1 | 54,8 |
| Obere Grenze des Zielbereichs | 55,6 | 165 | 164 |
| Quotient S^*/σ_{pt} | 0,81 | 0,70 | 0,91 |
| Standardunsicherheit $U(X_{pt})$ | 2,83 | 8,54 | 11,8 |
| Ergebnisse im Zielbereich | 10 | 7 | 6 |
| Prozent im Zielbereich | 91 | 88 | 86 |

Methoden:

Peak 37 = AgraQuant, BioCheck, BioKits, ELISA Systems, Immunolab, nutriLinia®, SensiSpec

Peak 110 = Ridascreen® Fast, Veratox

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte eine bimodale Verteilung der Ergebnisse. Daher wurde keine gemeinsame Auswertung aller Methoden vorgenommen, sondern eine Auswertung der Methoden, die den jeweiligen Peaks („Peak 37“ und „Peak 110“) zuzuordnen sind (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Auswertungen der Ergebnisse von Peak 37 und Peak 110, sowie von Methode RS-F zeigten eine niedrige Variabilität der Ergebnisse. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen jeweils unter 1,0. Die robusten Standardabweichungen liegen im bzw. im oberen Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben. Diese Aussage ist für die Methoden übergreifende Auswertung nur eingeschränkt gültig, da für einige Methoden nur wenige Ergebnisse vorlagen.

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 109%, 324% bzw. 324% vom Zusatzniveau von Sesam zur Dotierungsniveauprobe, innerhalb bzw. weit oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.51 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Sesam").

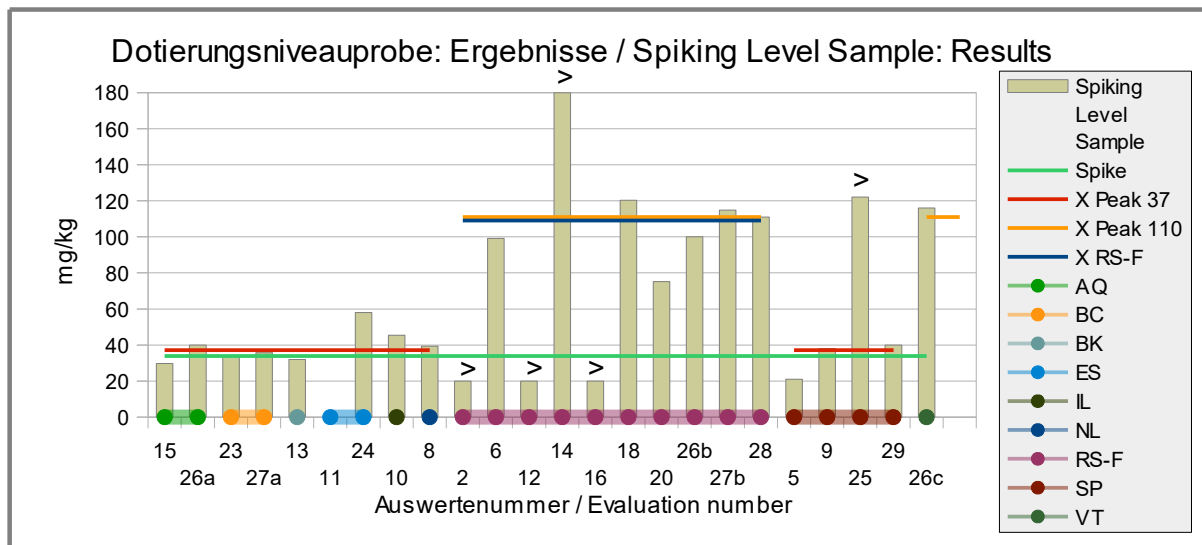


Abb./Fig. 19: ELISA-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 37“
 gelbe Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 110“
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

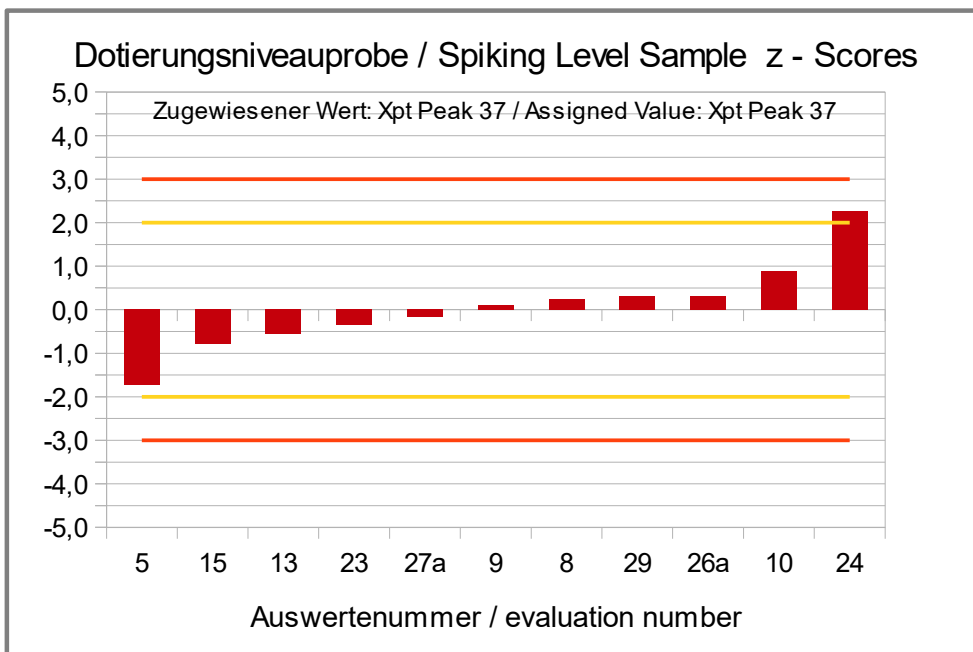


Abb./Fig. 20: z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)
 Zugewiesener Wert: Median aller Ergebnisse von Peak 37

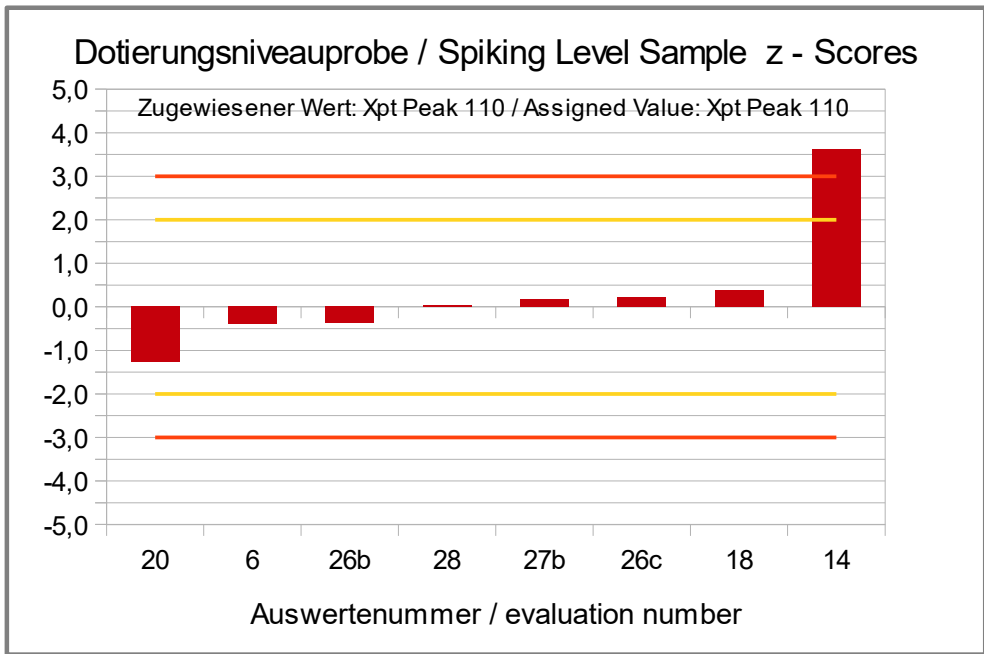


Abb./Fig. 21:

z-Scores (ELISA-Ergebnisse Sesam)

Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von Peak 110

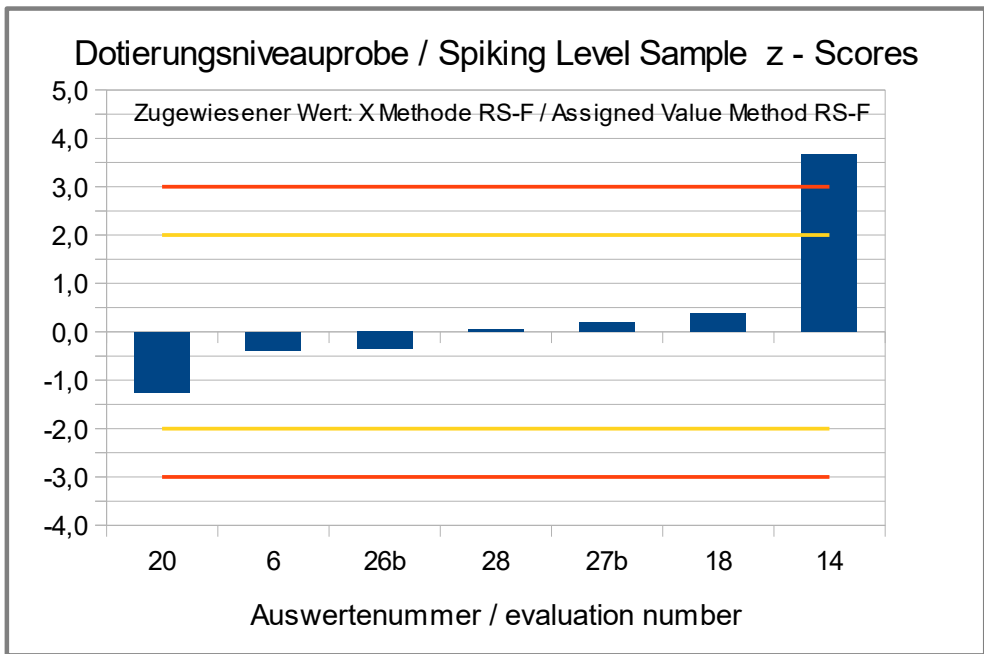


Abb./Fig. 22:

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

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

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | | Wiederfindungsrate* | | Probe B | | Wiederfindungsrate* | | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|------------|---------------------|---------|------------|--------------------|---------------------|------------------------|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | | | | |
| 15 | 29,7 | 88 | -0,50 | 44,2 | 93 | -0,28 | AQ | | | |
| 26a | 40,0 | 118 | 0,72 | 57,0 | 120 | 0,80 | AQ | | | |
| 23 | 33,8 | 100 | -0,01 | 42,1 | 89 | -0,45 | BC | | | |
| 27a | 35,6 | 105 | 0,20 | 47,1 | 99 | -0,04 | BC | | | |
| 13 | 32,0 | 94 | -0,22 | 47,8 | 101 | 0,03 | BK | | | |
| 11 | | | | 51,0 | 107 | 0,29 | ES | Ergebnis umgerechnet ° | | |
| 24 | 58,0 | 171 | 2,8 | 84,9 | 179 | 3,1 | ES | Ergebnis umgerechnet ° | | |
| 10 | 45,4 | 134 | 1,4 | 24,8 | 52 | -1,9 | IL | | | |
| 8 | 39,4 | 116 | 0,65 | 58,9 | 124 | 0,96 | NL | | | |
| 2 | >20 | | | >20 | | | RS-F | | | |
| 6 | 99,2 | 293 | 7,7 | 119 | 250 | 6,0 | RS-F | | | |
| 12 | > 20 | | | >20 | | | RS-F | | | |
| 14 | 210 | 619 | 21 | 160 | 337 | 9,5 | RS-F | | | |
| 16 | >20 | | | >20 | | | RS-F | | | |
| 18 | 120 | 355 | 10 | 161 | 340 | 9,6 | RS-F | | | |
| 20 | 75,2 | 222 | 4,9 | 105 | 221 | 4,8 | RS-F | | | |
| 26b | 100 | 295 | 7,8 | 125 | 263 | 6,5 | RS-F | | | |
| 27b | 115 | 339 | 9,5 | 141 | 296 | 7,8 | RS-F | | | |
| 28 | 111 | 327 | 9,1 | 150 | 316 | 8,6 | RS-F | | | |
| 5 | 21,0 | 62 | -1,5 | 47,0 | 99 | -0,04 | SP | | | |
| 9 | 38,0 | 112 | 0,48 | 54,0 | 114 | 0,55 | SP | | | |
| 25 | >122 | | | >122 | | | SP | Ergebnis umgerechnet ° | | |
| 29 | 40,0 | 118 | 0,72 | 55,0 | 116 | 0,63 | SP | | | |
| 26c | 116 | 342 | 9,7 | <2.5 | | | VT | | | |

° Umrechnung S. 20

| AB** | 50-150 % | AB** | 50-150 % |
|---------------|-----------|---------------|-----------|
| Anzahl im AB | 10 | Anzahl im AB | 11 |
| Prozent im AB | 53 | Prozent im AB | 58 |

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Sesame, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAS

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BK = BioKits, Neogen

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

RS-F= Ridascree® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

53% (10) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die dotierte Lebensmittelmatrix-Probe B lagen 58% (11) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Alle Ergebnisse im Akzeptanzbereich wurden mit den Methoden AQ, BC, BK, ES, IL, NL und SP erhalten.

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

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Sesam

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

| Auswertenummer | Probe A | Probe A | Probe B | Probe B | Qualitative Bewertung | Methode | Hinweis |
|----------------|---------|---------|---------|---------|-------------------------------------|---------|---------------------|
| | pos/neg | [mg/kg] | pos/neg | [mg/kg] | Übereinstimmungen mit Konsenswerten | | |
| 9 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | ASU | |
| 15 | negativ | - | positiv | - | 2/2 (100%) | GI | |
| 4 | negativ | | positiv | 23,7 | 2/2 (100%) | SFA | |
| 7 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 8 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | SFA | |
| 21 | negativ | - | positiv | - | 2/2 (100%) | SFA | |
| 12 | negativ | < 0,4 | positiv | | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 27 | negativ | <1 | positiv | 20,4 | 2/2 (100%) | SFA-ID | |
| 1 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 20 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |
| 22 | positiv | | negativ | | 0/2 (0%) | div | Proben verwechselt? |
| 26 | negativ | | positiv | | 2/2 (100%) | div | |

| | Probe A | Probe B |
|-----------------|---------|---------|
| Anzahl positiv | 1 | 11 |
| Anzahl negativ | 11 | 1 |
| Prozent positiv | 8 | 92 |
| Prozent negativ | 92 | 8 |
| Konsenswert | negativ | positiv |

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 GI = GEN-IAL First Allergen
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe B

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

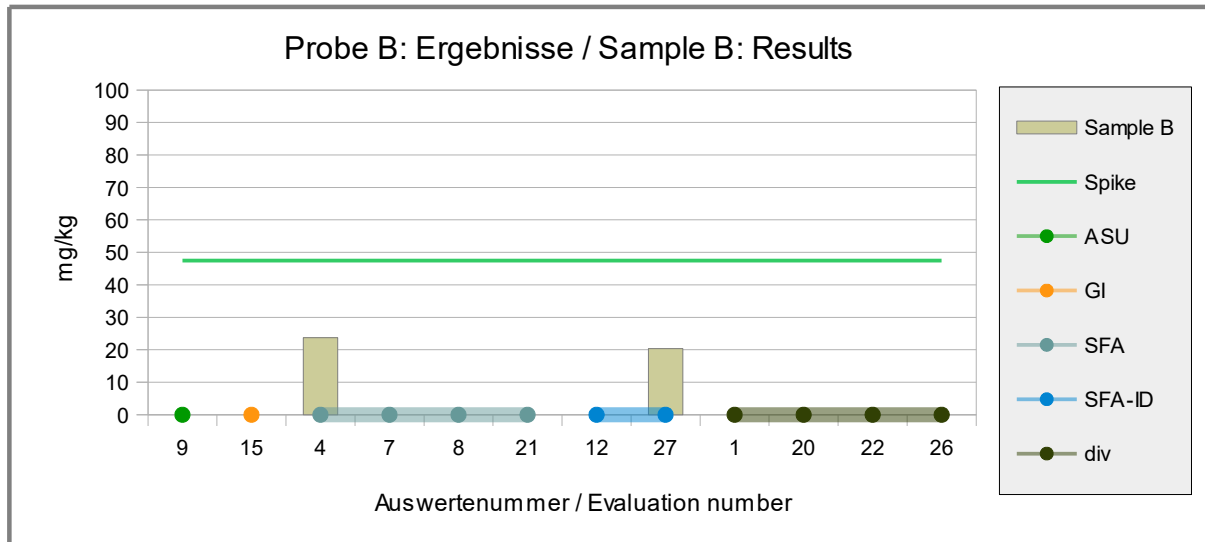


Abb./Fig. 23: PCR-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Quantitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

| Auswertenummer | Sesam pos/neg | Sesam [mg/kg] | z-Score Xpt _{ALL} | Methode | Hinweis |
|----------------|------------------|------------------|-------------------------------|---------|---------|
| 9 | positiv | | | ASU | |
| 15 | positiv | - | | GI | |
| 4 | positiv | 5,64 | | SFA | |
| 7 | positiv | | | SFA | |
| 8 | positiv | | | SFA | |
| 21 | positiv | - | | SFA | |
| 12 | positiv | | | SFA-ID | |
| 27 | positiv | 22,6 | | SFA-ID | |
| 1 | positiv | | | div | |
| 20 | positiv | | | div | |
| 22 | positiv | | | div | |
| 26 | positiv | | | div | |

| | | |
|-----------------|---------|--|
| Anzahl positiv | 12 | |
| Anzahl negativ | 0 | |
| Prozent positiv | 100 | |
| Prozent negativ | 0 | |
| Konsenswert | positiv | |

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method
 GI = GEN-IAL First Allergen
 SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
 SFA-ID = Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

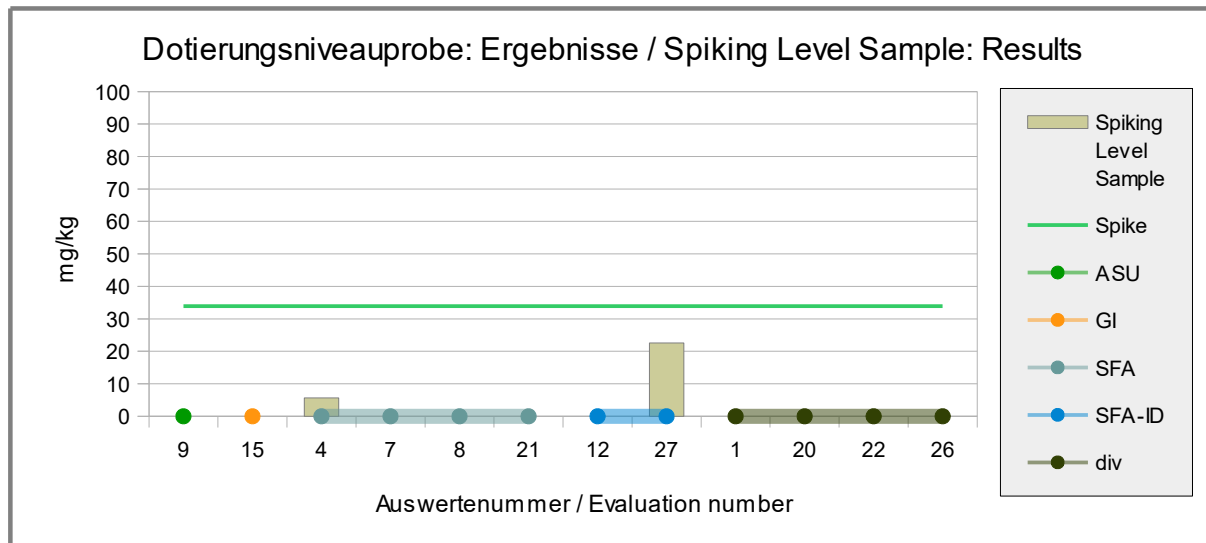


Abb./Fig. 24: PCR-Ergebnisse Sesam
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

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

| Auswertenummer | Dotierungsniveauprobe | | Wiederfindungsrate* | | Probe B | | Wiederfindungsrate* | | Methode | Hinweis |
|----------------|-----------------------|-----|---------------------|---------|---------|--------------------|---------------------|--|---------|---------|
| | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | [mg/kg] | [%] | [Z _{RR}] | | | | |
| 9 | | | | | | | | | ASU | |
| 15 | - | | | - | | | | | GI | |
| 4 | 5,64 | 17 | -3,3 | 23,7 | 50 | -2,0 | | | SFA | |
| 7 | | | | | | | | | SFA | |
| 8 | | | | | | | | | SFA | |
| 21 | - | | | - | | | | | SFA | |
| 12 | | | | | | | | | SFA-ID | |
| 27 | 22,6 | 67 | -1,3 | 20,4 | 43 | -2,3 | | | SFA-ID | |
| 1 | | | | | | | | | div | |
| 20 | | | | | | | | | div | |
| 22 | | | | | | | | | div | |
| 26 | | | | | | | | | div | |

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

* Recovery rate 100% relative size: Sesame, s. page 5

** Range of acceptance of AOAC for allergen ELISAS

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

GI = GEN-IAL First Allergen

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

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

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

4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

| Auswertenummer | ELISA Senf: Xpt (div. Methoden) | | ELISA Senf: Xpt (Methode: RS-F) | | ELISA Senf: Xpt (Methode: VT) | | ELISA Sesam: Xpt („Peak 50“ bzw. „Peak 37“) | | ELISA Sesam: Xpt („Peak 110“) | | ELISA Sesam: Xpt (Methode: RS-F) | |
|----------------|---------------------------------|------------|---------------------------------|------------|-------------------------------|------------|---------------------------------------------|------------|-------------------------------|------------|----------------------------------|------------|
| | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe |
| 1 | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | | |
| 5 | -1,7 | 2,4 | | | | | | -0,27 | -1,7 | | | |
| 6 | 1,1 | 0,27 | | | | 0,31 | | | | -0,40 | -0,54 | -0,38 |
| 7 | | | | | | | | | | | | |
| 8 | -3,2 | -3,4 | -3,3 | -3,1 | | | | 0,67 | 0,25 | | | |
| 9 | 0,83 | 0,1 | | | | | | 0,28 | 0,10 | | | |
| 10 | -2,7 | -3,0 | -2,7 | -2,4 | | | | -2,0 | 0,89 | | | |
| 11 | 0,37 | | | | | -0,30 | | 0,05 | | | | |
| 12 | -2,1 | | | | | | | | | | | |
| 13 | 0,60 | -0,25 | | | | | | -0,21 | -0,55 | | | |
| 14 | 0,30 | 0,26 | | | | -0,36 | | | | 3,6 | 0,66 | 3,7 |
| 15 | 0,71 | -0,03 | | | | | | -0,49 | -0,80 | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | | |
| 17 | -1,4 | 5,9 | | | | | | | | | | |
| 18 | 1,4 | -1,0 | 1,1 | 0,66 | | | | | | 0,37 | 0,70 | 0,39 |
| 19 | -0,70 | -2,1 | -0,84 | 1,0 | | | | | | | | |
| 20 | 0,44 | -0,50 | 0,25 | 1,5 | | | | | | -1,3 | -0,94 | -1,3 |
| 21 | 7,0 | 6,5 | 6,6 | 12 | | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | | | | | | |
| 23 | -1,3 | | | | | | | -0,66 | -0,35 | | | |
| 24 | 0,96 | -0,17 | | | | 0,20 | | 2,7 | 2,3 | | | |
| 25 | | | | | | | | | | | | |
| 26/26a | 0,89 | 1,1 | | | | 0,15 | | 0,52 | 0,31 | | | |
| 26b | | | | | | | | | | -0,37 | -0,36 | -0,35 |
| 26c | | | | | | | | | | 0,21 | | |
| 27 | 1,2 | -1,3 | 1,0 | 0,21 | | | | -0,27 | -0,16 | 0,17 | 0,10 | 0,19 |
| 28 | | | | | | | | | | 0,03 | 0,37 | 0,05 |
| 29 | 2,3 | 1,1 | | | | | | 0,36 | 0,31 | | | |

Methoden: RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen
 Peak 50 / Peak 37 = AgraQuant, BioCheck, BioKits, ELISA Systems, Immunolab, nutriLinia®, SensiSpec
 Peak 110 = Ridascreen® Fast, Veratox

Bewertung des z-Scores / valuation of z-score (DIN ISO 13528:2009-01):
 -2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)
 -2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)
 -3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

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

| Auswertenummer | ELISA Senf: | | ELISA Sesam: | | PCR Sellerie: | | PCR Senf: | | PCR Sesam: | |
|----------------|-------------|------------|--------------|------------|---------------|------------|-----------|------------|------------|------------|
| | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe | Probe B | Dot. Probe |
| 1 | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | -0,73 | -3,0 | -2,0 | -3,3 |
| 5 | 5,8 | -1,1 | -0,04 | -1,5 | | | | | | |
| 6 | 2,3 | 2,5 | 6,0 | 7,7 | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | |
| 8 | -3,1 | -3,1 | 0,96 | 0,65 | | | | | | |
| 9 | 2,0 | 2,1 | 0,55 | 0,48 | | | | | | |
| 10 | -2,3 | -2,4 | -1,9 | 1,4 | -4,0 | -3,9 | | | | |
| 11 | 1,4 | | 0,29 | | | | | | | |
| 12 | -1,7 | | | | | | | | | |
| 13 | 0,20 | 1,7 | 0,03 | -0,22 | | | | | | |
| 14 | 1,3 | 2,5 | 9,5 | 21 | | | | | | |
| 15 | 1,8 | 2,0 | -0,28 | -0,50 | | | | | | |
| 16 | | | | | | | | | | |
| 17 | -0,80 | 11 | | | -4,0 | -3,7 | | | | |
| 18 | 2,6 | 0,55 | 9,6 | 10 | | | | | | |
| 19 | 0,09 | -1,1 | | | | | | | | |
| 20 | 1,5 | 1,3 | 4,8 | 4,9 | | | | | | |
| 21 | 9,7 | 12 | | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | | | | |
| 23 | -0,67 | | -0,45 | -0,01 | | | | | | |
| 24 | 2,1 | 1,8 | 3,1 | 2,8 | | | | | | |
| 25 | | | | | | | | | | |
| 26/26a | 2,1 | 3,7 | 0,80 | 0,72 | | | | | | |
| 26b | | | 6,5 | 7,8 | | | | | | |
| 26c | | | | 9,7 | | | | | | |
| 27/27a | 2,5 | 0,11 | -0,04 | 0,20 | -1,9 | -1,8 | -0,35 | -1,9 | -2,3 | -1,3 |
| 27b | | | 7,8 | 9,5 | | | | | | |
| 28 | | | 8,6 | 9,1 | | | | | | |
| 29 | 3,8 | 3,7 | 0,63 | 0,72 | | | | | | |

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

-2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)

-2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)

-3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

5.1.1 ELISA: Senf

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | NWG/ LOD* | BG/ LOQ* | MU* | Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein | Methode |
|------------|----------------|------------------------|------------------|--------|------------------|-------|--------------------------|-------|-----------|----------|-------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| | | | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | mg/kg | mg/kg | | | |
| | | Tag/Monat | | | | | | | | | | | ELISA Test-Kit + Anbieter |
| AQ | 15 | 12.07. | negativ | <2 ppm | positiv | 71,3 | positiv | 75,5 | 1 | 2 | 15 | Senf | AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs |
| BC | 13 | 14.07.21 | negativ | <2 | positiv | 51,4 | positiv | 71,3 | 2 | 2 | 50 | Senf | BioCheck ELISA Mustard-Check |
| BC | 23 | | - | <2 | - | 40,73 | - | X | 1 | 2 | 30 | Senf | BioCheck ELISA Mustard-Check |
| IL | 17 | 21.07.21 | - | < 2P | - | 12P | - | 58P | 1 | 2 | 28,6 | Senfprotein | Immunolab Mustard ELISA |
| OS | 12 | | negativ | <2 | positiv | 28,7 | positiv | > 60 | | 2 | | Senf | ORSELL MUSTARD KIT |
| RS-F | 2 | 08.06.21 | negativ | <0,5 | positiv | >13,5 | positiv | >13,5 | | 0,5 | | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 8 | 14/06 | - | < 0,5 | - | 11,35 | - | 11,25 | | 0,5 | | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 10 | 30.06.21 | negativ | <LOQ | positiv | 20,36 | positiv | 19,68 | 0,1 | 0,5 | | Senfmehl | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 16 | 14.06.21 | - | <0,5 | - | >13,5 | - | >13,5 | | 0,5 | | Senf | ridascreen fast mustard R6152 |
| RS-F | 18 | 02.07.21 | | <0.5 | - | 81,19 | - | 56,99 | | 0,5 | 30,94 | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 19 | 04.06.21 | - | <0.50 | - | 49,94 | - | 36,31 | 0,1 | 0,5 | | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 20 | | negativ | | positiv | 67,11 | positiv | 66,59 | 0,5 | 1,5 | | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 21 | 15.07.21 | negativ | < 0,5P | positiv | 51,4P | positiv | 61,1P | 0,1 | 0,5 | 40 | Senfprotein | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| RS-F | 27 | 16.06.21 | negativ | <0.5 | positiv | 79,16 | positiv | 51,48 | 0,5 | 0,5 | 18,81 | Senf | Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm |
| SP | 5 | 09.06.21 | negativ | <2.0 | positiv | 34,9 | positiv | 122,6 | | 2 | 50 | Senf | SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins |
| SP | 9 | 23.06.21 | negativ | <2 | positiv | 73 | positiv | 77 | 1 | 2 | | Senf | SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins |
| SP | 29 | 01.06.21 | negativ | <1 | positiv | 95 | positiv | 97 | 1 | 2 | | Senf | SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins |
| VT | 6 | 08.06.21 | negativ | <2.5 | positiv | 76,94 | positiv | 81,11 | N/A | 2,5 | N/A | Senf | Veratox Mustard, Neogen |
| VT | 11 | 17.06.21 | negativ | <1.0 | positiv | 66,1 | n.a. | | 1 | 2,5 | | Senf | Veratox Mustard, Neogen |
| VT | 14 | 16/6/21 | - | < 2.5 | - | 65 | - | 81 | < 1 | 2,5 | 31 | Senf | Veratox Mustard, Neogen |
| VT | 24 | 16/07 | ND | <2.5 | D | 75 | D | 72,9 | | 2,5 | | Senf | Neogen Veratox |
| VT | 26 | 17.06.2021, 29.06.2021 | negativ | <2.5 | positiv | 74 | positiv | 96 | 2,5 | 2,5 | | Senf | Veratox Mustard, Neogen |

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Senf:

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| | | Antikörper | z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur | ja/nein | |
| AQ | 15 | | | ja | |
| BC | 13 | | 0.5g Probe/10ml Kit-Extraktionspuffer / 15mins bei 60°C | ja | |
| BC | 23 | | | ja | |
| IL | 17 | | | ja | |
| OS | 12 | | | ja | |
| RS-F | 2 | | | | |
| RS-F | 8 | Spezifische AK erkennen gelben, braunen, schwarzen Senf. | nach Testanleitung | ja | |
| RS-F | 10 | | Ergebnis außerhalb des Messbereichs mit Standardkurve extrapoliert | nein | |
| RS-F | 16 | | Senf Extraktionspuffer, 10 min bei 60°C | ja | |
| RS-F | 18 | | | ja | Kit hat hohe Kreuzreaktivität zu Rapsöl. Proben A und B enthalten 50% Raps. |
| RS-F | 19 | | | nein | |
| RS-F | 20 | | | ja | LFOD-TSTSOP-8828 |
| RS-F | 21 | Antikörper des Tests detektieren spezifisch verschiedene Senfarten (gelber, weißer, brauner, schwarzer Senf). Die Ergebnisse sind für Senf allgemein. | Aufarbeitung und Durchführung des Tests nach Anleitung von RIDASCREEN® FAST Senf/Mustard (Art. Nr.: R6152), Lot 25460 - Extraktion mit verdünntem Allergen-Extraktionspuffer 10 min bei 60°C | ja | |
| RS-F | 27 | nach Testkit-Anleitung | nach Testkit-Anleitung | ja | |
| SP | 5 | | | ja | |
| SP | 9 | erkennt Senfproteinen | lt. Herstellerangaben | ja | |
| SP | 29 | | | | |
| VT | 6 | | nach Testkit-Anleitung | ja | Wiederfindungsrate mit Probe A 108% |
| VT | 11 | | Extraktion: 60°C vorgewärmter TRIS Extraktionspuffer/ Proben in Schüttelwasserbad extrahiert bei 60°C für 15 min. Zentrifugieren. Bestimmung: 4 Parameter-Kurve | ja | |
| VT | 14 | Senf | TRIS-EDTA/15 Minuten/60 C | ja | |
| VT | 24 | | | | |
| VT | 26 | | | | |

5.1.2 ELISA: Sesam

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | NWG/ LOD* | BG/ LOQ* | MU* | Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein | Methode |
|------------|----------------|-------------------|------------------|----------|------------------|--------|--------------------------|--------|-----------|----------|-------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
| | | | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | qualitativ | mg/kg | | | | | |
| | | Tag/Monat | | | | | | | | | | | ELISA Test-Kit + Anbieter |
| AQ | 15 | 29.06. | negativ | <2 ppm | positiv | 44,2 | positiv | 29,7 | 0,2 | 2 | 15 | Sesam | AgraQuant ELISA Sesame COKAL 1948, RomerLabs |
| AQ | 26a | 28.06.21 | negativ | <2.5 | positiv | 57 | positiv | 40 | 2,5 | 2,5 | | Sesam | AgraQuant ELISA Sesame COKAL 1948, RomerLabs |
| BC | 23 | | - | <2 | - | 42,11 | - | 33,8 | 0,2 | 2 | 30 | Sesam | BioCheck ELISA Mustard-Check |
| BC | 27 | 02.06.21 | negativ | <2 | positiv | 47,05 | positiv | 35,6 | 2 | 2 | 26,64 | Sesam | BioCheck ELISA Sesame-Check |
| BK | 13 | 14.07.21 | negativ | <2 | positiv | 47,8 | positiv | 32 | 2 | 2 | 50 | Sesam | BioKits Sesame Protein Assay Kit, Neogen |
| ES | 11 | 09.06.21 | negativ | <0.125 P | positiv | 12,5P | Not tested | | 0,125 | 0,25 | | Sesamprotein | ELISA Systems Sesame ESSESRD-48 |
| ES | 24 | 16/07 | ND | <0.25P | D | 20,8P | D | 14,2P | | 0,25 | | Sesamprotein | Elisa Systems |
| IL | 10 | 01.07.21 | negativ | <LOQ | positiv | 24,75 | positiv | 45,36 | | 2 | | Please select! | Immunolab Sesame ELISA |
| NL | 8 | 15/06 | - | < 2 | - | 58,90 | - | 39,38 | | 2 | | Sesam | Sesam-E nutrLinia über RomerLabs |
| RS-F | 2 | 04.06.21 | negativ | <2,5 | positiv | >20 | positiv | >20 | | 2,5 | | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 6 | 09.06.21 | negativ | <2.5 | positiv | 118,78 | positiv | 99,2 | N/A | 2,5 | N/A | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 12 | | negativ | < 2,5 | positiv | >20 | positiv | > 20 | | 2,5 | | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 14 | 13/7/21 | - | < 2.5 | - | 160 | - | 210 | 0,2 | 2,5 | 16 | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 16 | 03.06.21 | - | <2,5 | - | >20 | - | >20 | | 2,5 | | Sesam | ridascreen fast SESAME R7202 |
| RS-F | 18 | 20.07.21 | - | <2.5 | - | 161,3 | - | 120,3 | | 2,5 | 27,13 | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 20 | | negativ | | positiv | 104,98 | positiv | 75,2 | 1,2 | 4 | | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 26b | 22.06.21 | negativ | <2.5 | positiv | 125 | positiv | 100 | 2,5 | 2,5 | | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 27 | 02.06.21 | negativ | <2.5 | positiv | 140,7 | positiv | 114,76 | 2,5 | 2,5 | 29,78 | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| RS-F | 28 | 14/07/21 | - | <2.5 | - | 150 | - | 111 | 0,2 | 2,5 | 29 | Sesam | Ridascreen® FAST Sesame R7202, R-Biopharm |
| SP | 5 | 09.06.21 | negativ | <2.0 | positiv | 47 | positiv | 21 | | 2 | 50 | Sesam | SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins |
| SP | 9 | 23.06.21 | negativ | <2 | positiv | 54 | positiv | 38 | 1,5 | 2 | | Sesam | SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins |
| SP | 25 | 20.07.21 | negativ | | positiv | >30P | positiv | >30P | | 2 | | Sesamprotein | SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins |
| SP | 29 | 01.06.21 | negativ | <0.2 | positiv | 55 | positiv | 40 | 0,2 | 2 | | Sesam | SensiSpec ELISA Sesame, Eurofins |
| VT | 26c | 13.06.21 | negativ | <2.5 | negativ | <2.5 | positiv | 116 | 2,5 | 2,5 | | Sesam | Veratox Sesame Allergen, Neogen |

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung ELISA Sesam:

| 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 | 26a | | | | |
| BC | 23 | | | ja | |
| BC | 27a | Nach Testkit-Anleitung | Nach Testkit-Anleitung | ja | |
| BK | 13 | | 0.5g Sample/10ml kit extraction buffer/ 15mins at 60C | ja | |
| ES | 11 | Anti-sesame seed 2S-albumin | Extraction: Room temperature PBS extraction buffer (pH check) and samples extracted in shaking waterbath @ 60C for 15 min. Centrifugation. Determination: 4 parameter curve | ja | |
| ES | 24 | | | | |
| IL | 10 | | Sample spiking level was further diluted 1:4 | nein | |
| NL | 8 | Antikörper gegen Sesamproteine | Nach Testkit-Anleitung | ja | |
| RS-F | 2 | | | | |
| RS-F | 6 | | Nach Testkit-Anleitung | ja | Wiederfindungsrate für Probe A 102% |
| RS-F | 12 | | | ja | |
| RS-F | 14 | Sesam | Allergen-Kit Extraktionspuffer/10 min/60 C | ja | |
| RS-F | 16 | | SESAM Extraktionspuffer, 10 MIN bei 60°C | nein | |
| RS-F | 18 | | | ja | |
| RS-F | 20 | | | ja | LFOD-TST-SOP-8867 |
| RS-F | 26b | | | | |
| RS-F | 27b | Nach Testkit-Anleitung | Nach Testkit-Anleitung | ja | |
| RS-F | 28 | Sesamprotein | AEP, 60C, 10min, zentrifugieren 2500g | ja | |
| SP | 5 | | | ja | |
| SP | 9 | erkennt Sesamproteine | lt. Herstellerangaben | ja | |
| SP | 25 | | Eurofins Testanleitung Version 21. Februar 2019 | nein | |
| SP | 29 | | | | |
| VT | 26c | | | | |

5.1.3 PCR: Sellerie

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | NWG/ LOD* | BG/ LOQ* | MU* | Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein | Methode |
|------------|----------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|--------------------------|----------|-----------|----------|-------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| | | | positiv / negativ | mg/kg | positiv / negativ | mg/kg | positiv / negativ | mg/kg | mg/kg | mg/kg | % | | |
| | | | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Sellerie-DNA | PCR Test-Kit + Anbieter |
| ASU | 8 | 07.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Sellerie-DNA | ASU §64 Methode/method |
| ASU | 9 | 17.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 10 | | | Sellerie-DNA | ASU §64 Methode/method |
| CEN | 1 | | negativ | | positiv | | positiv | | 5 | nd | | | CEN/TS 15634-2 |
| CEN | 20 | | negativ | | positiv | | positiv | | 10 | | | Please select! | Selection PCR-Methods |
| FP | 10 | 28.06.21 | negativ | negativ at the LOD | positiv | 0,16 | positiv | 0,82 | 0,1 | 0,8 | | Sellerie-DNA | foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics |
| FP | 15 | 19.06. | negativ | <0,1 ppm | positiv | <0,8 ppm | positiv | <0,8 ppm | 0,1 | 0,8 | 30 | Sellerie | foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics |
| FP | 17 | 19.07.21 | negativ | < 0,080 | positiv | 0,58 | positiv | 3,1 | 0,08 | 0,8 | 16,1 | Sellerie-DNA | foodproof Detection Kit, BIOTECON Diagnostics |
| IM | 3 | 04.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Please select! | Other: IMEGEN |
| SFA | 7 | 14.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | 1 | | Sellerie-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 16 | 11.06.21 | NEGATIV O | | POSITIV O | | POSITIV O | | 2 | | | Sellerie-DNA | SURE FOOD ALLERGEN, R-BIOPHARM CONGEN CELERY |
| SFA | 21 | 06.07.21 | negativ | - | positiv | - | positiv | - | 0,4 | - | - | Sellerie-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 18a | 21. Jul | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Sellerie-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA-4p | 4 | | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Sellerie-DNA | Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 12 | | negativ | < 0,4 | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Sellerie-DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 27 | 08.06.21 | negativ | <1 | positiv | 25,43 | positiv | 20,52 | 1 | 1 | 44,65 | Sellerie | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| div | 18b | 21.07.21 | negativ | | negativ | | negativ | | 1 | | | Sellerie-DNA | Selection PCR-Methods |
| div | 22 | | positiv | | negativ | | positiv | | 0,008 | 0,08 | | Please select! | internal Methods |
| div | 25 | | Negativ | | Positiv | | Positiv | | see note | | | Please select! | Real Time PCR Internal Method: MEB65 |
| div | 26 | 20.08.20 | negativ | | positiv | 3 | positiv | 2 | | | 40 | Selleriesamen, getr. | in house |

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

Fortsetzung PCR Sellerie:

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | Target-Sequenz/ -DNA | z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen | ja/nein | |
| ASU | 8 | Protein der Mannitoldehydro-genase | SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen | ja | |
| ASU | 9 | | CTAB / Proteinase K /Amylase A / Promega Maxwell / realtime PCR / 45 Zyklen | ja | § 64 LFGB L 08.00-56:2014-08 |
| CEN | 1 | Mannitoldehydrogenase | Extraktionskit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Zyklen | ja | |
| CEN | 20 | | EN 15634-2:2019 - Real time PCR | nein | LFOD-TST-SOP-8859 |
| FP | 10 | | Absolut-Quantifizierung mit Standardkurve 28062021, mit Allergen RM 800 Referenzmaterial. | nein | LOD bestimmt auf 1 Sellerie-Genom Equivalent und 0,1 ppm in Sellerie-dotierter Reismehl-Matrix. LOQ 0,8 ppm aufgrund Threshold set der Standardkurve. |
| FP | 15 | | | ja | |
| FP | 17 | | real time PCR, foodproof DNA Extraktion Bioteccon Diagnostics | ja | |
| IM | 3 | | | ja | |
| SFA | 7 | Sellerie | CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR | nein | |
| SFA | 16 | | PREP ADVANCE SUREFOOD/TQ POLYMERASE/RT PCR/45 ZYKLEN | ja | |
| SFA | 21 | | Der verwendete Test ist eine Real-Time-PCR zum direkten qualitativen Nachweis spezifischer DNA-Sequenzen von Sellerie (<i>Apium graveolens</i>). DNA-Präparation mit SureFood® PREP Advanced (Prinzip gemäß Protokoll 2: Lyse bei 65°C - Vorfiltration und Einstellung optimaler Bindungsbedingungen - Bindung der Nucleinsäuren auf einem Spinfilter - Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren - Trocknung der Spinfilter - Erste Elution von Nucleinsäuren aus dem Spinfilter - Wiederholtes Einstellen optimaler Bindungsbedingungen - Zweite Bindung der Nucleinsäuren auf einem Spinfilter - Zweite Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren - Trocknen des Spinfilters - Elution von Nucleinsäuren aus der Spinfilter zur Analyse) und Real time-PCR (45 Zyklen gemäß den Anweisungen zur Einrichtung des Kits) mit Bio-Rad CFX96, Lot 22490 | ja | SureFood® ALLERGEN Celery - Art. S3605 |
| SFA | 18a | Sellerie | | nein | |
| SFA-4p | 4 | | SureFood®PREP Advanced Kit, Protokoll 1 | ja | |
| SFA-ID | 12 | | | ja | |
| SFA-ID | 27 | Nach Testkit-Anleitung | Nach Testkit-Anleitung | ja | |
| div | 18b | Sellerie | In-House Methode | ja | |
| div | 22 | ribosomale RNA | | ja | |
| div | 25 | Mannitol dehydrogenase (MDH) | Extraktion mit DNeasy Mericon Qiacube HT kit. Detektion mittels Real-Time PCR (50 Zyklen zur Amplifizierung) | ja | LD PCR=15 pg DNA (<10mg/kg für Referenzmaterial) |
| div | 26 | M6PR-Gen | | | |

5.1.4 PCR: Senf

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | NWG/ LOD* | BG/ LOQ* | MU* | Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein | Methode |
|------------|----------------|-------------------|------------------|-------|------------------|-------|--------------------------|-------|-----------|----------|-------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | positiv/negativ | mg/kg | positiv/negativ | mg/kg | positiv/negativ | mg/kg | | | | | |
| ASU | 9 | 17.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 5 | | | Senf-DNA | PCR Test-Kit + Anbieter |
| CEN | 20 | | negativ | | positiv | | positiv | | 10 | | | Please select! | ASU §64 Methode/method |
| GI | 15 | 12.07. | negativ | - | positiv | - | positiv | - | | | | Senf-DNA | Selection PCR-Methods |
| SFA | 3 | 04.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Please select! | GEN-IAL First Allergen |
| SFA | 4 | | negativ | | positiv | 39,94 | positiv | 11,99 | 0,4 | 1 | | Senf | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 7 | 10.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | 1 | | Senf-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 8 | 08.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Senf-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 18 | 06.07.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Senf-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 21 | 06.07.21 | negativ | - | positiv | - | positiv | - | 0,4 | - | - | Senf-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 12 | | negativ | < 0,4 | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Senf-DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 27 | 08.06.21 | negativ | <1 | positiv | 44,62 | positiv | 26,62 | 1 | 1 | 34,67 | Senf | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-Q | 6 | 08.06.21 | negativ | N/A | positiv | N/A | positiv | N/A | N/A | | N/A | Senf-DNA | Sure Food Allergen Quant, R-Biopharm / Congen |
| div | 1 | | negativ | | positiv | | positiv | | 5 | nd | | | Fuchs M., Cichna-Markl M., Hochegger, R – Development and validation of a real-time PCR method for the detection of white mustard (Sinapis alba) in foods. J. Agric. Food Chemis. 2010, 58, 11193-11200. |
| div | 22 | | positiv | | negativ | | positiv | | 0,008 | 0,08 | | Please select! | interne Methoden |
| div | 25 | | Negativ | | Positiv | | Positiv | | see note | | | Please select! | Real Time PCR Interne Methode: MEB67 |
| div | 26a | 08.07.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Senf-DNA (Sinapis alba) | |
| div | 26b | 08.07.21 | negativ | | negativ | | negativ | | | | | Senf-DNA (Brassica nigra, Brassica juncea) | |
| div | 26c | 08.07.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Senf-DNA | |

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Senf:

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| | | Target-Sequenz/ -DNA | z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen | ja/nein | |
| ASU | 9 | | CTAB / Proteinase K / Amylase A / Promega Maxw ell / realtime PCR / 45 Zyklen | ja | § 64 LFGB L 08.00-65:2017-10 |
| CEN | 20 | | CENTS 15634-5:2016 - Real time PCR | ja | LFOD-TST-SOP-8858 |
| GI | 15 | | | ja | |
| SFA | 3 | | | ja | |
| SFA | 4 | | SureFood@PREP Advanced Kit, Protokoll 1 | ja | |
| SFA | 7 | Senf | CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR | ja | |
| SFA | 8 | charakteristischer Sequenzabschnitt der Senf-DNA | SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen | ja | |
| SFA | 18 | Senf | | No | |
| SFA | 21 | | Der Test weist DNA von Weißem Senf (Sinapis alba), Indischem Senf (Brassica juncea) und Schwarzem Senf (Brassica nigra) nach. Die Ergebnisse gelten für Senf im Allgemeinen. DNA-Präparation mit SureFood@ PREP Advanced (Prinzip gemäß Protokoll 2: Lyse bei 65°C - Vorfiltration und Einstellung optimaler Bindungsbedingungen - Bindung der Nukleinsäuren auf einem Spinfilter - Aufreinigung der gebundenen Nukleinsäuren - Trocknung der Spinfilter - Erste Elution von Nukleinsäuren aus dem Spinfilter - Wiederholtes Einstellen optimaler Bindungsbedingungen - Zweite Bindung der Nukleinsäuren auf einem Spinfilter - Zweite Aufreinigung der gebundenen Nukleinsäuren - Trocknen des Spinfilters - Elution von Nukleinsäuren aus der Spinfilter zur Analyse) und Real time-PCR (45 Zyklen gemäß den Anweisungen zur Einrichtung des Kits) mit Bio-Rad CFX96, Lot 22490 | ja | SureFood@ ALLERGEN Mustard - Art. S3609 |
| SFA-ID | 12 | | | ja | |
| SFA-ID | 27 | Nach Testkit-Anleitung | Nach Testkit-Anleitung | ja | |
| SFA-Q | 6 | | Aufreinigung mit SureFood Prep Advanced S1053, real time PCR, 45 Zyklen | ja | Kit # S3609 |
| div | 1 | MADS-D | Extraction kit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 cycles | ja | |
| div | 22 | MADS D | | ja | |
| div | 25 | MADS D Protein-Gen, Reverse transcriptase vom gypsy-like Retroelement 13G42-26 | Extraktion mit DNeasy Mericon Qiacube HT kit. Detektion mittels Real-Time PCR (50 Zyklen für Amplifizierung) | ja | LD PCR=15 pg DNA (<10mg/kg für Referenzmaterial) |
| div | 26a | cDNA Sequenz MADS-D Protein | | | |
| div | 26b | RT Gen Gypsylike Retro13G42-26 | | | |
| div | 26c | Cruciferin A Gen | | | |

5.1.5 PCR: Sesam

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Datum der Analyse | Ergebnis Probe A | | Ergebnis Probe B | | Ergebnis Dotierungsprobe | | NWG/ LOD* | BG/ LOQ* | MU* | Angabe quantitatives Ergebnis als z.B. Lebensmittel/ Protein | Methode |
|------------|----------------|-------------------|-------------------|-------|-------------------|-------|--------------------------|-------|-----------|----------|-------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | | positiv / negativ | mg/kg | positiv / negativ | mg/kg | positiv / negativ | mg/kg | mg/kg | mg/kg | mg/kg | | |
| ASU | 9 | 17.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 10 | | | Sesam-DANN | ASU §64 Methode/method |
| GI | 15 | 29.06. | negativ | - | positiv | - | positiv | - | | | | Sesam-DNA | GEN-IAL First Allergen |
| SFA | 4 | | negativ | | positiv | 23,72 | positiv | 5,64 | 0,4 | 1 | | Sesam | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 7 | 10.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | 0,4 | 1 | | Sesam-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 8 | 08.06.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Sesam-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA | 21 | 06.07.21 | negativ | - | positiv | - | positiv | - | 0,4 | - | - | Sesam-DNA | Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 12 | | negativ | < 0,4 | positiv | | positiv | | 0,4 | | | Sesam-DNA | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| SFA-ID | 27 | 08.06.21 | negativ | <1 | positiv | 20,38 | positiv | 22,57 | 1 | 1 | 40 | Please select! | Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen |
| div | 1 | | negativ | | positiv | | positiv | | 5 | nd | | | Waiblinger H-U - Ring trial validation of single and multiplex real-time PCR methods for the detection and quantification of the allergenic food ingredients sesame, almond, lupine and Brazil nur - J. Verbr. Lebensm. - DOI 10,1007/s00003-014-0868-x |
| div | 20 | | negativ | | positiv | | positiv | | 10 | | | Please select! | Selection PCR-Methods |
| div | 22 | | positiv | | negativ | | positiv | | 0,008 | 0,08 | | Please select! | internal Methods |
| div | 26 | 08.07.21 | negativ | | positiv | | positiv | | | | | Sesam-DNA | |

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Fortsetzung PCR Sesam:

| Meth. Abk. | Auswertenummer | Spezifität | Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung) | Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025 | Sonstige Hinweise |
|------------|----------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|
| | | Target-Sequenz / -DNA | z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen | ja/nein | |
| ASU | 9 | | CTAB / Proteinase K / Amylase A / Promega Maxwell / realtime PCR / 45 Zyklen | ja | § 64 LFGB L 18.00-19:2014-08 |
| GI | 15 | 2S Albumin Gen | | ja | |
| SFA | 4 | | SureFood®PREP Advanced Kit, Protokoll 1 | ja | |
| SFA | 7 | Sesam | CTAB Präzipitation, QIAgen PCR Purification Kit, Real Time PCR | ja | |
| SFA | 8 | charakteristischer Sequenzabschnitt der Sesam-DNA | SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen | ja | |
| SFA | 21 | | Der verwendete Test ist eine Real-Time-PCR zum direkten qualitativen Nachweis von spezifischen Sesam (Sesamum indicum) DNA-Sequenzen. DNA-Präparation mit SureFood® PREP Advanced (Prinzip gemäß Protokoll 2: Lyse bei 65°C - Vorfiltration und Einstellung optimaler Bindungsbedingungen - Bindung der Nukleinsäuren auf einem Spinfilter - Aufreinigung der gebundenen Nukleinsäuren - Trocknung der Spinfilter - Erste Elution von Nukleinsäuren aus dem Spinfilter - Wiederholtes Einstellen optimaler Bindungsbedingungen - Zweite Bindung der Nukleinsäuren auf einem Spinfilter - Zweite Aufreinigung der gebundenen Nukleinsäuren - Trocknen des Spinfilters - Elution von Nukleinsäuren aus der Spinfilter zur Analyse) und Real-time-PCR (45 Zyklen gemäß den Anweisungen zur Einrichtung des Kits) mit Bio-Rad CFX96, Lot 22490 | ja | SureFood® ALLERGEN Sesame - Art. S3608 |
| SFA-ID | 12 | | | ja | |
| SFA-ID | 27 | Nach Testkit-Anleitung | Nach Testkit-Anleitung | ja | Angabe als Sesam |
| div | 1 | Albumin 2S | Extraction kit: NucleoSpin Food Macherez-Nagel - Real-time PCR 40 Zyklen | ja | |
| div | 20 | | Realtime PCR in house method | nein | LFOD-TST-SOP-8733 |
| div | 22 | 2S Albumin | | ja | |
| div | 26 | Internal 2S Albumin Gen | | | |

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA-ptAL04 Dotierungsniveauprobe

| | | |
|----------------------|--------------|-------|
| Gewicht Gesamtprobe | 1,07 | kg |
| Microtracer | FSS-rot lake | |
| Teilchengröße | 75 – 300 | µm |
| Gewicht pro Partikel | 2,0 | µg |
| Tracerzugabe | 21,1 | mg/kg |

Analysenergebnisse:

| Probe | Einwaage [g] | Partikel Anzahl | Partikel [mg/kg] |
|-------|--------------|-----------------|------------------|
| 1 | 5,01 | 45 | 18,0 |
| 2 | 4,97 | 46 | 18,5 |
| 3 | 5,02 | 46 | 18,3 |
| 4 | 5,01 | 58 | 23,2 |
| 5 | 4,98 | 46 | 18,5 |
| 6 | 4,98 | 54 | 21,7 |
| 7 | 4,98 | 57 | 22,9 |
| 8 | 4,99 | 51 | 20,4 |

| Poisson-Verteilung | | |
|---------------------------|-----------|----------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Freiheitsgrad | 7 | |
| Mittelwert | 50,4 | Partikel |
| Standardabweichung | 5,38 | Partikel |
| χ^2 (CHI-Quadrat) | 4,03 | |
| Wahrscheinlichkeit | 78 | % |
| Wiederfindungsrate | 96 | % |

| Normalverteilung | | |
|----------------------------|------------|-------|
| Probenanzahl | 8 | |
| Mittelwert | 20,2 | mg/kg |
| Standardabweichung | 2,16 | mg/kg |
| rel. Standardabweichung | 10,7 | % |
| Horwitz Standardabweichung | 10,2 | % |
| HorRat-Wert | 1,1 | |
| Wiederfindungsrate | 96 | % |

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

| | |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| EP-Nummer | ptAL04 - 2021 |
| EP-Name | Allergene IV: Sellerie, Senf und Sesam in Mayonnaise mit „Dotierungsniveauprobe“ |
| Probenmatrix (Prozessierung) | Proben A + B: Mayonnasie / Zutaten: 50% Rapsöl, Wasser, Branntweinessig, Zucker, Eigelb, Weizenstärke, Salz, modifizierte Stärke, Verdickungsmittel: Xanthan, Guarkernmehl, Natriumalginat, Säureregulator: Natriumacetat, natürliches Aroma weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel |
| Probenzahl und Probenmenge | 2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g |
| Lagerungsinformation | Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: gekühlt 2 - 10 °C (EP-Zeitraum) |
| Verwendungszweck | Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben) |
| Parameter | qualitativ + quantitativ: Sellerie, Senf, Sesam (Protein / DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg (als Lebensmittelzutat) Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg (als Lebensmittelzutat) |
| Untersuchungsmethoden | Methode ist freigestellt |
| Hinweis zur Analyse | Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert. |
| Ergebnisangabe | Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen. |
| Einheiten | mg/kg |
| Anzahl von Stellen | mindestens 2 signifikante Stellen |
| Ergebnisabgabe | Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de |
| Letzter Abgabetermin | spätestens 23. Juli 2021 |
| Auswertebericht | Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt. |
| Koordinator und Ansprechpartner der EP | Dr. Matthias Besler-Scharf |

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

| Teilnehmer / Participant | Ort / Town | Land / Country |
|--------------------------|------------|-----------------|
| | | SPANIEN |
| | | TSCHECHIEN |
| | | GROSSBRITANNIEN |
| | | Deutschland |
| | | SCHWEIZ |
| | | CANADA |
| | | ITALIEN |
| | | PORTUGAL |
| | | ITALIEN |
| | | Deutschland |
| | | Deutschland |
| | | GROSSBRITANNIEN |
| | | USA |
| | | SPANIEN |
| | | POLEN |
| | | FRANKREICH |
| | | Deutschland |
| | | CANADA |
| | | GROSSBRITANNIEN |
| | | Deutschland |
| | | Deutschland |
| | | FRANKREICH |
| | | GROSSBRITANNIEN |
| | | GROSSBRITANNIEN |
| | | USA |
| | | VIETNAM |
| | | SPANIEN |
| | | Deutschland |
| | | CANADA |

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

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

7. Verzeichnis relevanter Literatur

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

- collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
 30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
 31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
 32. ASU §64 LFGB L 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of sesame (Sesamum indicum) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 33. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 34. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
 35. ASU §64 LFGB L 08.00-64 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von von schwarzem Senf (Brassica nigra L.) und braunem Senf (Brassica juncea L.) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.) and brown mustard (Brassica juncea L.) in boiled sausages by real-time PCR]
 36. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]

DLA ptAL04 (2021) - Allergene IV

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

23 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Ausland (Frankreich, Griechenland, Großbritannien, Italien, Polen, Portugal, Schweiz, Spanien, Tschechien sowie Kanada, USA und Vietnam).