



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAL05 (2021)

Allergene V:

Haselnuss, Walnuss und Ei

in Backware (Kakaokeks)

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)

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	DLA - Proficiency Tests GmbH Hauptstr. 80, 23845 Oering, Germany Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc. Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA ptAL05 (2021)
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report (10. Januar 2022) Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 10. Januar 2022
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	6
2.1.2 Stabilität.....	9
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	9
2.3 Ergebnisübermittlung.....	9
3. Auswertung.....	10
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	10
3.2 Robuste Standardabweichung.....	11
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern.....	11
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	12
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	12
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	12
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen.....	15
3.5 z-Score.....	16
3.5.1 Warn- und Eingriffssignale.....	16
3.6 z'-Score.....	17
3.7 Quotient S^*/opt	17
3.8 Standardunsicherheit und Rückführbarkeit.....	17
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	18
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	18
4. Ergebnisse.....	19
4.1 Vergleichsuntersuchung Haselnuss.....	21
4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Haselnuss.....	21
4.1.2 PCR-Ergebnisse: Haselnuss.....	33
4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss.....	36
4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss.....	36
4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss.....	46
4.3 Vergleichsuntersuchung Ei.....	48
4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Ei (als Volleipulver).....	48
4.3.2 PCR-Ergebnisse: Ei.....	61
4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	62
5. Dokumentation.....	65
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	65
5.1.1 ELISA: Haselnuss.....	66
5.1.2 ELISA: Walnuss.....	68
5.1.3 ELISA: Ei.....	70
5.1.4 PCR: Haselnuss.....	72
5.1.5 PCR: Walnuss.....	73
5.2 Homogenität.....	74
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	74
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	75
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	76
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	77

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (EP) 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 von DLA gebackene Kakaokekse. Die Grundzusammensetzung war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1).

Nach Zerkleinern und Sieben mittels Schlagmühle (mesh 1,5 mm) wurde die Grundmischung homogenisiert.

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

Als weitere Zutat wurden Kekse mit dem Dotierungsmaterial gebacken (150°C, 30 min), das die allergenen Zutaten Haselnuss, Walnuss und Ei enthält, und anschließend getrocknet (50°C, über Nacht). Nach Zerkleinerung, Sieben (mesh 1,5 mm) und Homogenisierung wurde der die allergenen Zutaten enthaltende, gebackene Keks zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut die 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 und die Dotierungsniveauprobe von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B	Dotierungs- niveauprobe
Kakao-Kekse, glutenfrei (gebacken 150°C, 30 min) Zutaten: Teffmehl (Zwerghirse), Zucker, Margarine (Sonnenblumenöl, Kokosfett und Zusatzstoffe), Kakaopulver (4,6%), Reisprotein, Salz	96,0 g/100g	100 g/100g	-
Kakao-Kekse, dotiert (gebacken 150°C, 30 min) Zutaten: Teffmehl (Zwerghirse), Zucker, Margarine (Sonnenblumenöl, Kokosfett und Zusatzstoffe), Kakaopulver (4,6%), Reisprotein, Salz, sowie Haselnuss, Walnuss, Ei und weitere Zutaten (siehe unten)	4,0 g/100g	-	-
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100	-	-	99,9 g/100g
Haselnüsse, geröstet gemahlen, Mischung (10 Produkte aus 5 Ländern, Europa) - als Haselnuss* - davon 14,1% Gesamtprotein**	19,8 mg/kg 2,79 mg/kg	-	12,1 mg/kg 1,70 mg/kg
Walnüsse, geröstet gemahlen, Mischung (11 Produkte u.a. aus Nordamerika, Südamerika, Europa) - als Walnuss* - davon 15,8% Gesamtprotein**	20,4 mg/kg 3,22 mg/kg	-	12,0 mg/kg 1,88 mg/kg
Volleipulver pasteurisiert, sprühgetrocknet, Mischung (6 Produkte aus 2 Ländern, Europa) - als Volleipulver* - davon 46,9% Gesamtprotein** - davon 26,0% Eiklarprotein***	20,6 mg/kg 9,67 mg/kg 5,36 mg/kg	-	13,0 mg/kg 6,10 mg/kg 3,38 mg/kg
weitere Zutaten: Maltodextrin und Siliciumdioxid	<0,2 g/100 g	-	<0,2 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=5,30 für Haselnuss- und Walnussprotein und mit F=6,25 für Volleiprotein)

*** Eiklarprotein gemäß Literatur [36, 37]

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe A und der Dotierungsniveauprobe hat eine Wahrscheinlichkeit von 74% bzw. 72% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [17]. Es wurden HorRat-Werte von je 1,0 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Homogenität der abgefüllten dotierten Probe A

Durchführung der Homogenitätstests

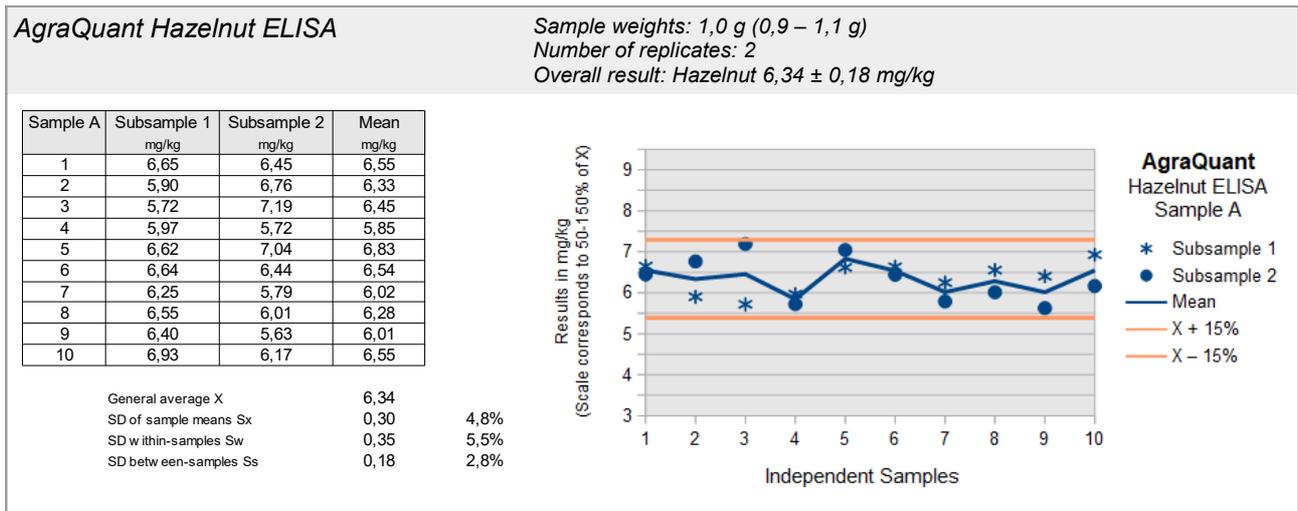
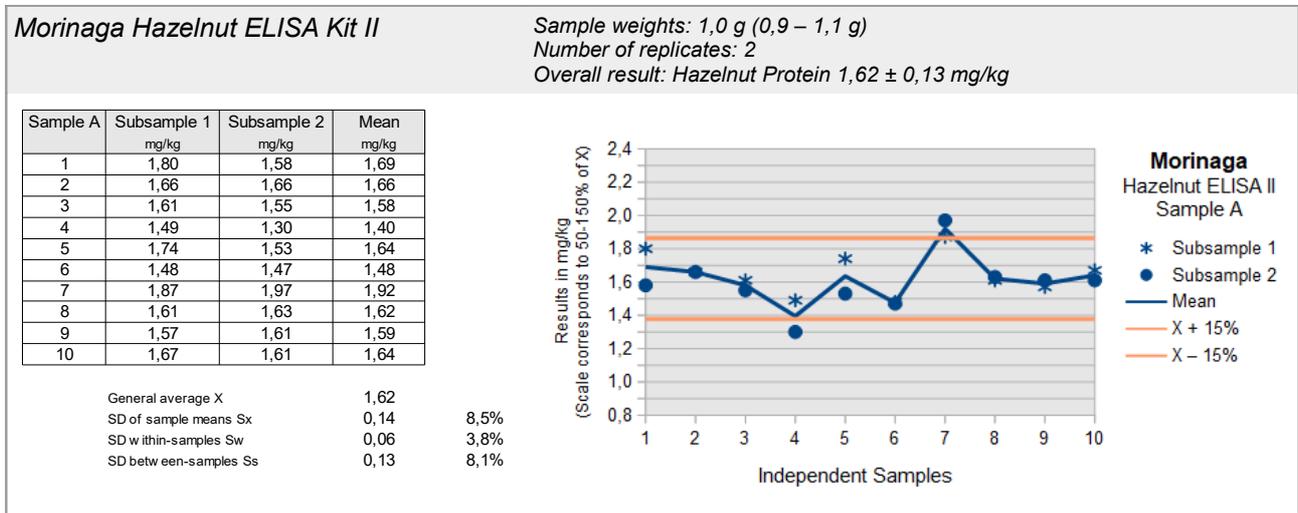
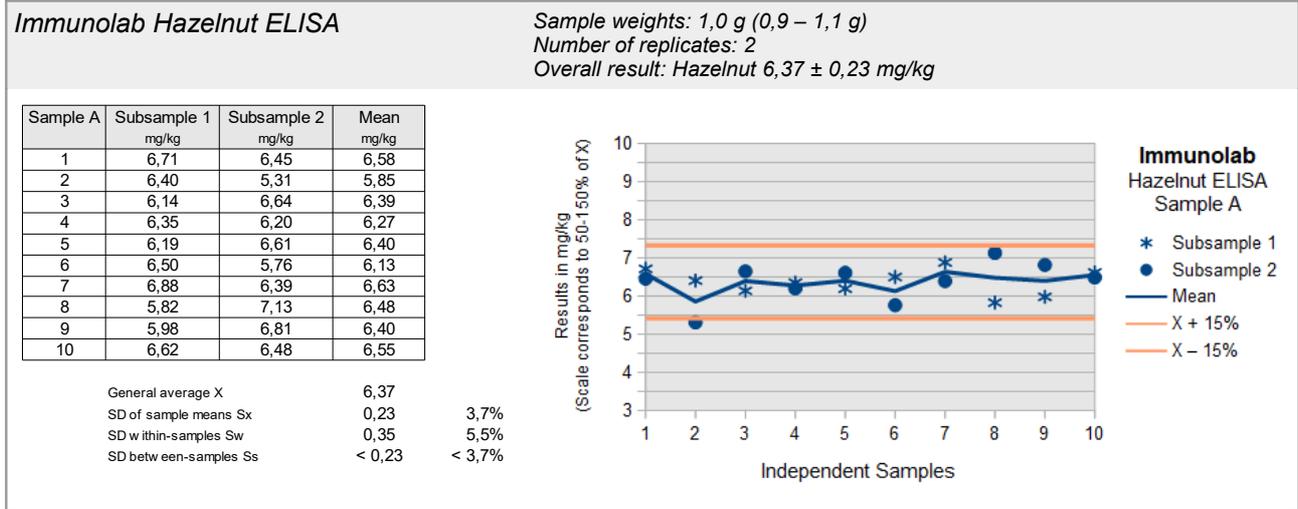
Die Homogenitätstests wurden in Kooperation mit den Labors der angegebenen Testkit-Anbieter durchgeführt. Von DLA wurden zufällig 10 Muster der abgefüllten dotierten Probe ausgewählt und davon jeweils 2 Teilproben in zuvor zufällig-codierte Extraktionsbehälter eingewogen und anschließend den Laboren 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 Laboren nicht mitgeteilt. Nach Übersendung der Analysenergebnisse durch die Labore 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

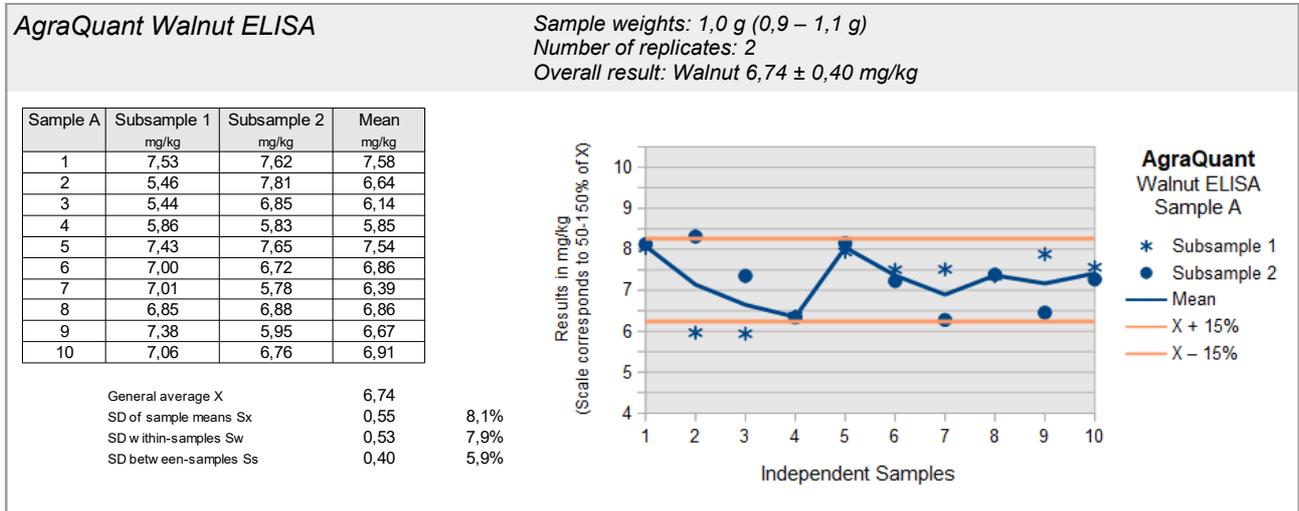
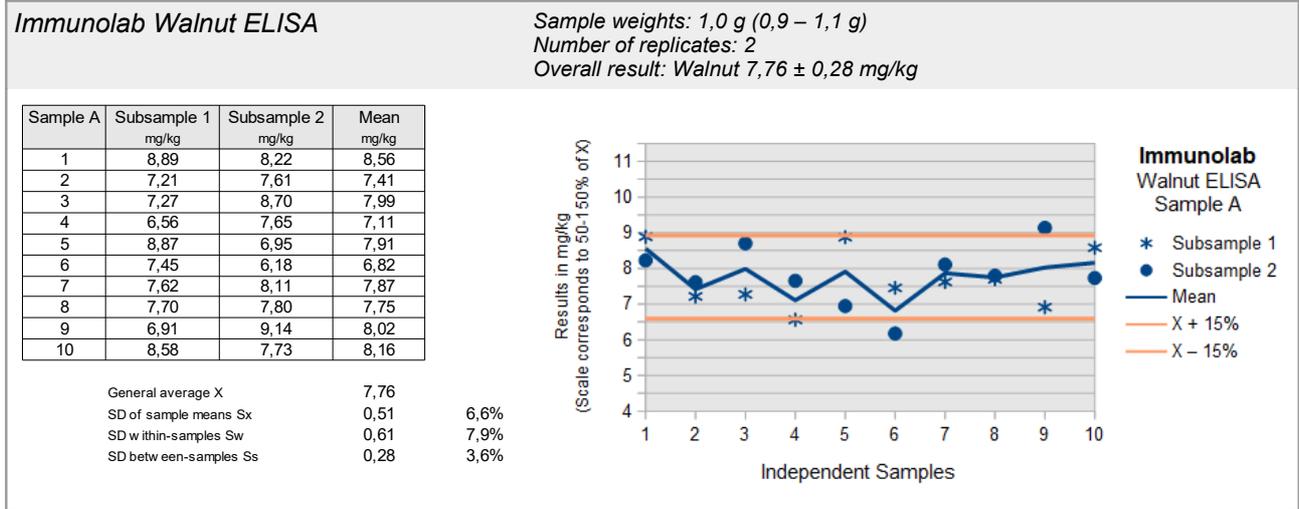
Die Homogenität wird mit einer Standardabweichung zwischen den Proben von $S_s \leq 15\%$ („Heterogenitätsstandardabweichung“) als hinreichend gesichert angesehen. Dieses Kriterium wird für die untersuchte Probe A in allen ELISA-Tests sowohl für Haselnuss (Immunolab, Morinaga und AgraQuant), Walnuss (Immunolab und AgraQuant) als auch für Ei (Morinaga) 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].

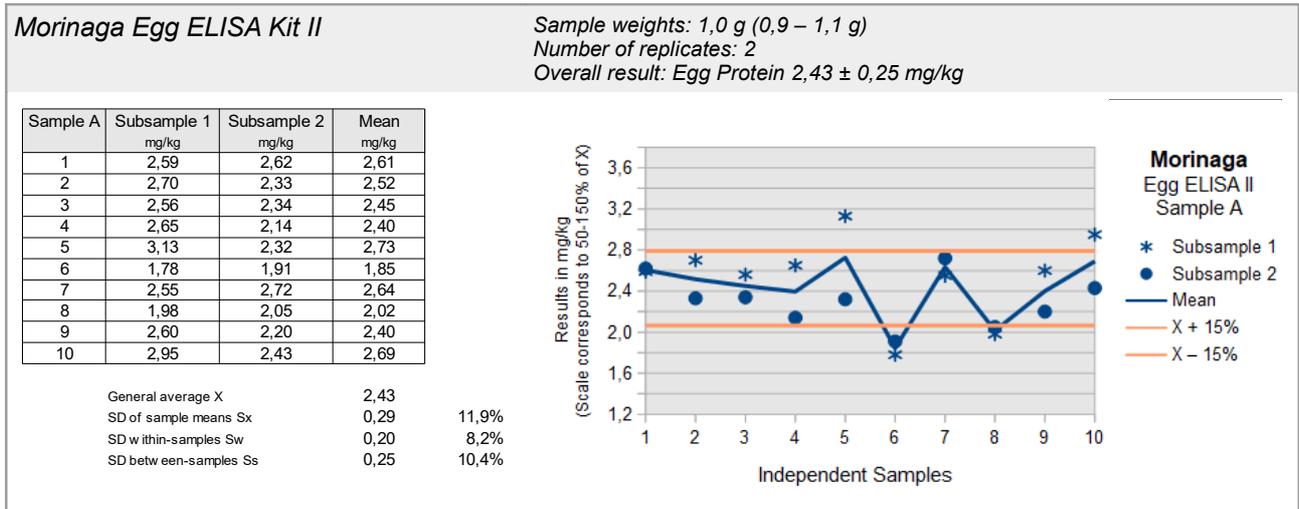
ELISA-Tests: Homogenität Haselnuss / Homogeneity Hazelnut



ELISA-Tests: Homogenität Walnuss / Homogeneity Walnut



ELISA-Tests: Homogenität Ei / Homogeneity Egg



2.1.2 Stabilität

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

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

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,32$ ($20,0^\circ\text{C}$) und $0,34$ ($20,5^\circ\text{C}$). 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 34. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B sowie eine Dotierungsniveauprobe verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 22. Oktober 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 Haselnuss, Walnuss und Ei im mg/kg Bereich in der Matrix Kakaokeks. Eine der beiden Proben sowie die "Dotierungsniveauprobe" wurden mit den allergenen Zutaten hergestellt. Die "Dotierungsniveauprobe" enthält die Allergene in einfacher Matrix mit ähnlichen Gehalten ohne weitere Prozessierung. Die Dotierungsniveauprobe soll wie eine normale Probe untersucht werden.

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

2.3 Ergebnisübermittlung

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

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

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

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

Von 32 Teilnehmern haben 30 Teilnehmer mindestens ein Ergebnis abgegeben. 2 Teilnehmer haben 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 Einzelmethoden** - $S^*_{METHOD\ i}$
mit mindestens 5 quantitativen Ergebnisangaben.

3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern

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 12 - 42% für die PCR-Methoden (s. Tab. 2a und 2b).

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

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

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

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

3.4.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: ELISA-Validierungskriterien

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, der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU und anderen Faktoren 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.

ELISA-Ergebnisse, die als **Haselnussprotein** angegeben wurden, sind mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe (vgl. S. 5) auf das **Gesamtlebensmittel (Haselnuss)** umgerechnet worden.

ELISA-Ergebnisse, die als **Eiklarproteine** oder **Eiprotein (Eiklar- und Eigelbproteine)** angegeben wurden, sind in **Volleipulver** umgerechnet worden. Sofern angegeben wurden die Vorgaben des betreffenden Testkit-Herstellers berücksichtigt. Es wurde ein Anteil von 26% Eiklarprotein in *Volleipulver* zugrunde gelegt. Gesamt-Eiprotein-Angaben (Moringa und Moringa Kit II) wurden mit dem experimentell bestimmten Proteingehalt der Rohstoffe auf das Gesamtlebensmittel (Eipulver) umgerechnet (siehe S. 5).

Für den Parameter Walnuss waren keine Umrechnungen nötig.

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 $X_{pt_{M_i}}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

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

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode i [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD i}}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Mittelwert		
Median		
Robuster Mittelwert (X_{pt})		
Robuste Standardabweichung (S^*)		
Zielkenndaten ^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 Haselnuss

4.1.1 ELISA-Ergebnisse: Haselnuss

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]			
19	positiv	5,00	negativ	<LOQ	2/2 (100%)	AQ	
21	positiv	6,23	negativ	<1	2/2 (100%)	AQ	
25	positiv	6,50	negativ	<1	2/2 (100%)	AQ	
13	positiv	6,20	negativ	<1	2/2 (100%)	BF	
12	positiv	5,26	negativ		2/2 (100%)	IL	
23	positiv	6,20	negativ	<1	2/2 (100%)	IL	
30	positiv	4,10	negativ	<1	2/2 (100%)	IL	
4	positiv	6,67	negativ	<1,1	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	positiv	8,20	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
6	positiv	9,86	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
7	positiv	14,4	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
9	positiv	12,3	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
10	positiv	8,90	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
16	positiv	13,5	negativ	<0,2	2/2 (100%)	RS-F	
17	positiv	10,6	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
18	positiv	12,3	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
20	positiv	10,9	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
24	positiv	12,9	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
27	positiv	13,7	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
28	positiv	11,0	negativ	<2,5	2/2 (100%)	RS-F	
1	positiv	9,00	negativ	0	2/2 (100%)	SP	
2	positiv	5,20	negativ	<1,0	2/2 (100%)	SP	
14	positiv	6,50	negativ	< 2,50	2/2 (100%)	VT	
22	positiv	6,80	negativ	<2,5	2/2 (100%)	VT	
26	positiv	6,00	negativ	<2,5	2/2 (100%)	VT	
29	positiv	7,60	negativ	0	2/2 (100%)	VT	

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	26	0
Anzahl negativ	0	26
Prozent positiv	100	0
Prozent negativ	0	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 IL = Immunolab
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
 RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Haselnuss [mg/kg]	z-Score Xpt _{Peak 6}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
19	5,00	-0,76		AQ	
21	6,23	0,03		AQ	
25	6,50	0,21		AQ	
13	6,20	0,01		BF	
12	5,26	-0,60		IL	
23	6,20	0,01		IL	
30	4,10	-1,3		IL	
4	6,67	0,32		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	8,20		-1,2	RS-F	
6	9,86		-0,59	RS-F	
7	14,4		0,99	RS-F	
9	12,3		0,26	RS-F	
10	8,90		-0,92	RS-F	
16	13,5		0,66	RS-F	
17	10,6		-0,33	RS-F	
18	12,3		0,27	RS-F	
20	10,9		-0,23	RS-F	
24	12,9		0,48	RS-F	
27	13,7		0,75	RS-F	
28	11,0		-0,19	RS-F	
1	9,00	1,8		SP	
2	5,20	-0,63		SP	
14	6,50	0,21		VT	
22	6,80	0,40		VT	
26	6,00	-0,12		VT	
29	7,60	0,92		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

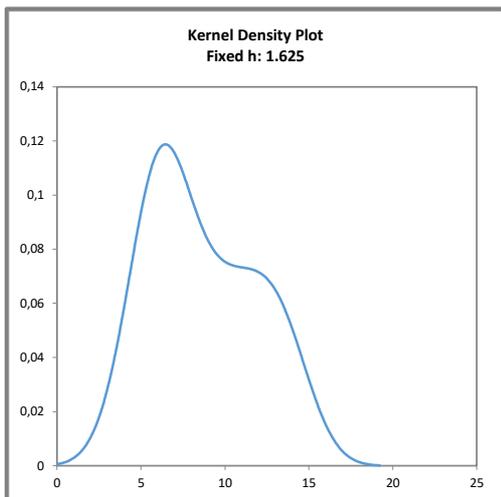


Abb. / Fig. 1:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse des Hauptpeaks „Peak 6“ bei ca. 6 mg/kg und einen Nebenpeak bei etwa 12 mg/kg, der auf Ergebnisse der Methode RS-F zurückgeht.

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

Kenndaten	Methoden Peak 6 [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{Peak\ 6}}$	$X_{pt_{METHOD\ RS-F}}$
Anzahl der Messergebnisse	14	12
Anzahl der Ausreißer	0	0
Mittelwert	6,23	11,5
Median	6,22	11,7
Robuster Mittelwert (X_{pt})	6,18	11,6
Robuste Standardabweichung (S^*)	1,04	2,22
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	1,55	2,89
Untere Grenze des Zielbereichs	3,09	5,78
Obere Grenze des Zielbereichs	9,27	17,3
Quotient S^*/σ_{pt}	0,67	0,77
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$	0,348	0,800
Ergebnisse im Zielbereich	14	12
Prozent im Zielbereich	100	100

Methoden:

Peak 6 = AgraQuant, Biofront, Immunolab, Morinaga, SensiSpec, Veratox
 RS-F (Peak 12) = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

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 getrennte Auswertung der Methoden, die dem Hauptpeak („Peak 6“) und dem Nebenpeak (Methode RS-F) zuzuordnen sind (Zuordnung siehe oben unter der Tabelle).

Die Auswertungen der Ergebnisse der Methoden von „Peak 6“ und von Methode RS-F zeigten eine geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag 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 31% (Methoden „Peak 6“) bzw. 59% (Methode RS-F) vom Zusatzniveau von Haselnuss zu Probe A unterhalb bzw. innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.32 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Haselnuss").

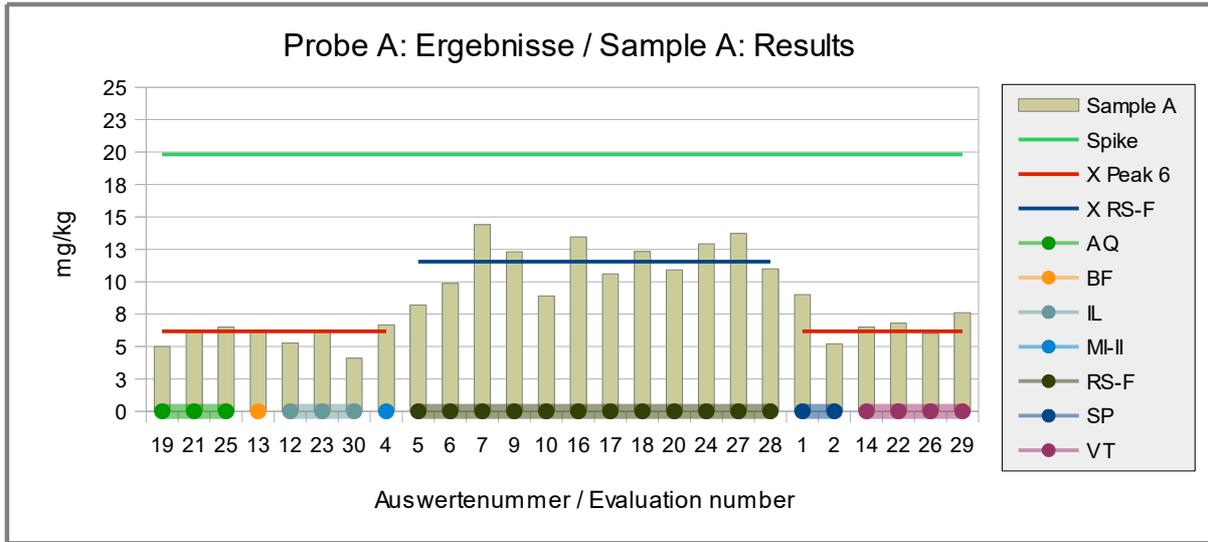


Abb./Fig. 2: ELISA-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 6“
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

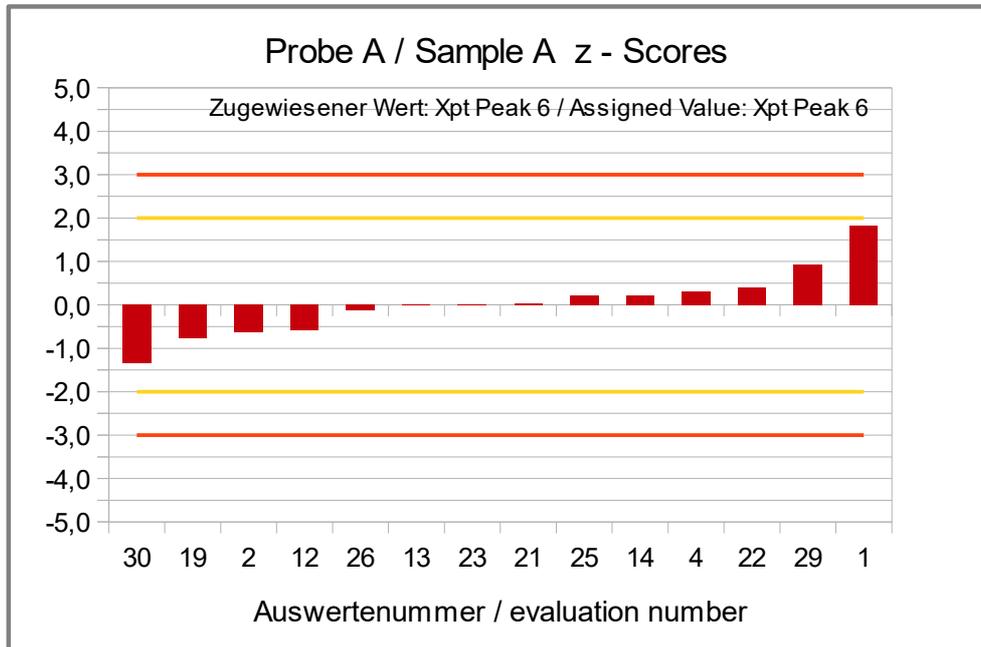


Abb./Fig. 3:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Haselnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse von „Peak 6“

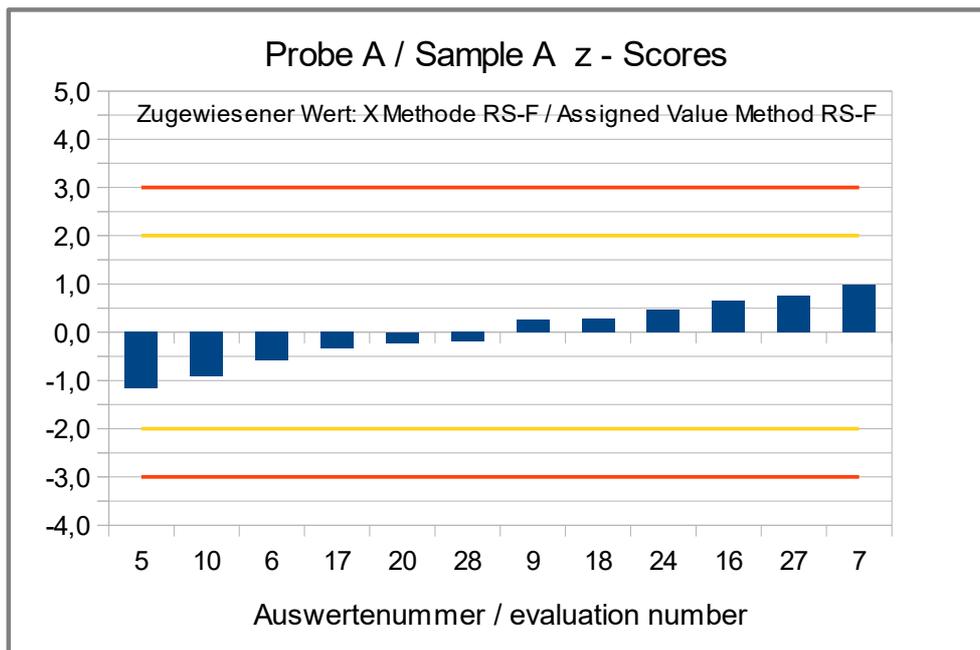


Abb./Fig. 4:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Haselnuss	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]				
19	10,0	-0,16		AQ	
21	10,4	0,01		AQ	
25	9,40	-0,39		AQ	
13	17,9	2,9		BF	
12	7,81	-1,0		IL	
23	9,10	-0,50		IL	
30	2,70	-3,0		IL	
4	5,82	-1,8		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	10,9	0,19	-0,40	RS-F	
6	15,1	1,8	0,98	RS-F	
7	13,2	1,1	0,36	RS-F	
9	12,5	0,80	0,13	RS-F	
10	2,50	-3,0	-3,2	RS-F	
16	14,5	1,6	0,78	RS-F	
17	8,60	-0,70	-1,2	RS-F	
18	13,9	1,3	0,59	RS-F	
20	9,80	-0,23	-0,77	RS-F	
24	13,2	1,1	0,34	RS-F	
27	13,6	1,2	0,48	RS-F	
28	12,0	0,61	-0,04	RS-F	
1	11,0	0,23		SP	
2	12,0	0,61		SP	
14	6,55	-1,5		VT	
22	7,50	-1,1		VT	
26	10,4	0,00		VT	
29	7,40	-1,2		VT	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

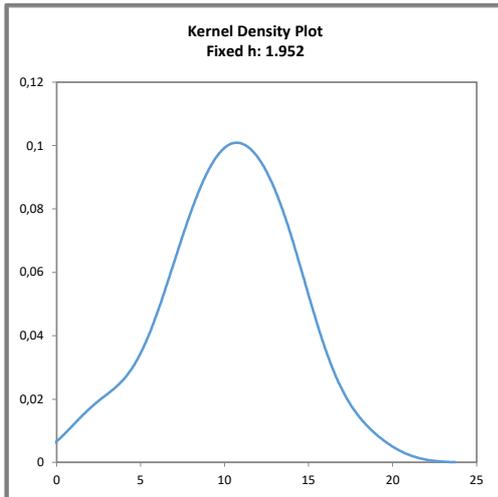


Abb. / Fig. 5:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer leichten Schulter bei < 5 mg/kg.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Haselnuss**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	26	12
Anzahl der Ausreißer	0	-
Mittelwert	10,3	11,6
Median	10,4	12,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	10,4	12,1
Robuste Standardabweichung (S^*)	3,47	2,56
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	2,60	3,03
Untere Grenze des Zielbereichs	5,20	6,06
Obere Grenze des Zielbereichs	15,6	18,2
<i>Quotient S^*/σ_{pt}</i>	<i>1,3</i>	<i>0,84</i>
<i>Standardunsicherheit $U(X_{pt})$</i>	<i>0,851</i>	<i>0,923</i>
<i>Ergebnisse im Zielbereich</i>	<i>23</i>	<i>11</i>
<i>Prozent im Zielbereich</i>	<i>88</i>	<i>92</i>

Methoden:

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse ohne eindeutige methodenabhängige Unterschiede.

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden sowie für Methode RS-F zeigte eine normale bzw. geringe Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0 bzw. 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 86% bzw. 100% vom Zusatzniveau von Haselnuss zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.32 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Haselnuss").

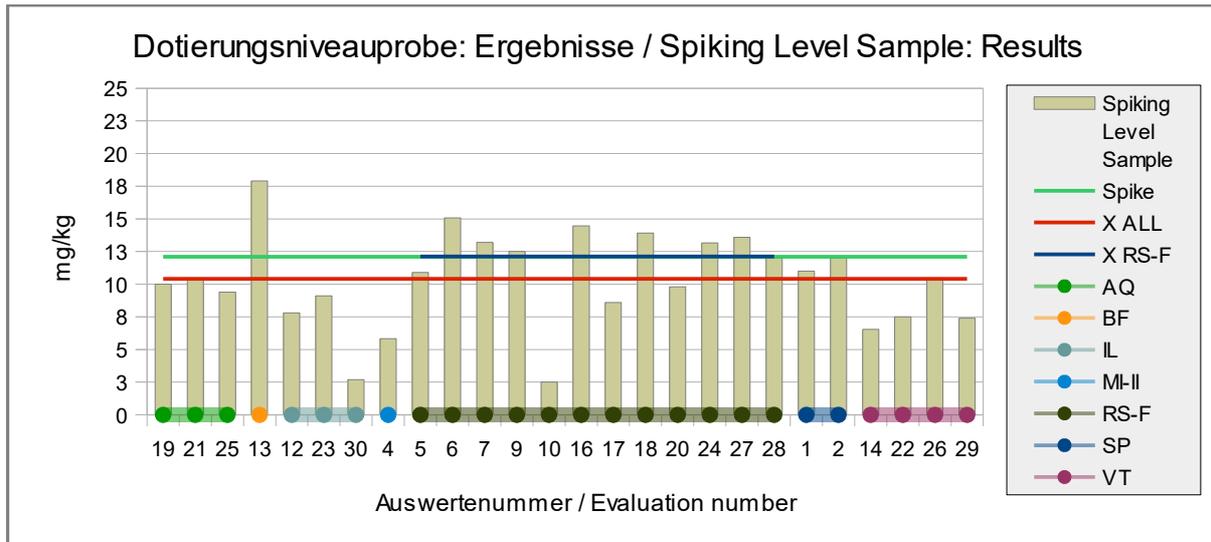


Abb./Fig. 6: ELISA-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

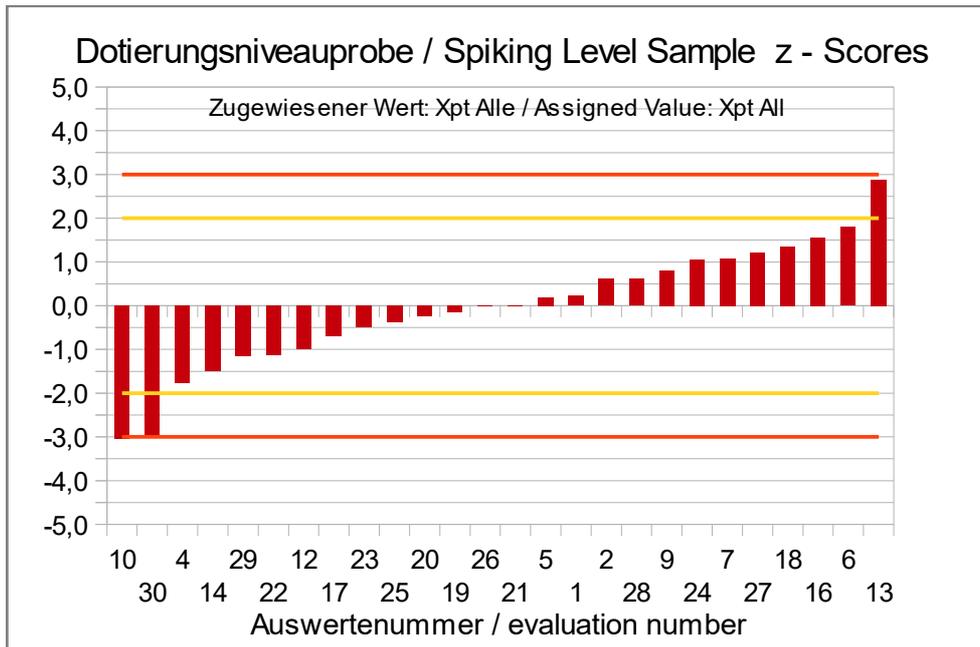


Abb./Fig. 7:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Haselnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

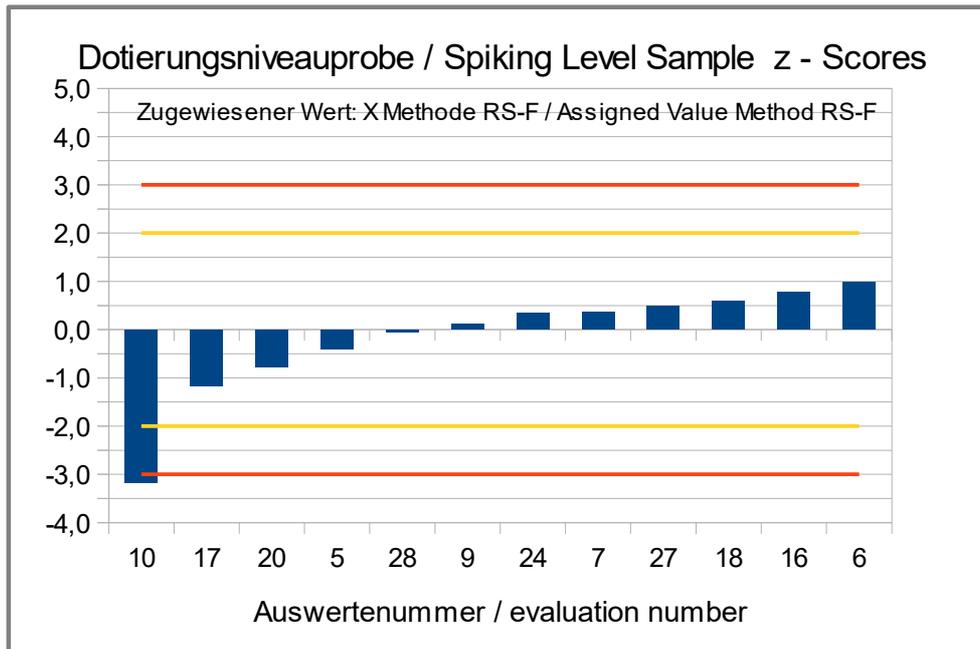


Abb./Fig. 8:

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Probe A [mg/kg]	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[%]	[Z _{RR}]		[%]	[Z _{RR}]		
19	10,0	83	-0,69	5,00	25	-3,0	AQ	
21	10,4	86	-0,55	6,23	31	-2,7	AQ	
25	9,40	78	-0,89	6,50	33	-2,7	AQ	
13	17,9	148	1,9	6,20	31	-2,7	BF	
12	7,81	65	-1,4	5,26	27	-2,9	IL	
23	9,10	75	-1,0	6,20	31	-2,7	IL	
30	2,70	22	-3,1	4,10	21	-3,2	IL	
4	5,82	48	-2,1	6,67	34	-2,7	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
5	10,9	90	-0,40	8,20	41	-2,3	RS-F	
6	15,1	125	1,0	9,86	50	-2,0	RS-F	
7	13,2	109	0,36	14,4	73	-1,1	RS-F	
9	12,5	103	0,13	12,3	62	-1,5	RS-F	
10	2,50	21	-3,2	8,90	45	-2,2	RS-F	
16	14,5	120	0,78	13,5	68	-1,3	RS-F	
17	8,60	71	-1,2	10,6	53	-1,9	RS-F	
18	13,9	115	0,60	12,3	62	-1,5	RS-F	
20	9,80	81	-0,76	10,9	55	-1,8	RS-F	
24	13,2	109	0,35	12,9	65	-1,4	RS-F	
27	13,6	112	0,49	13,7	69	-1,2	RS-F	
28	12,0	99	-0,03	11,0	55	-1,8	RS-F	
1	11,0	91	-0,36	9,00	45	-2,2	SP	
2	12,0	99	-0,03	5,20	26	-3,0	SP	
14	6,55	54	-1,8	6,50	33	-2,7	VT	
22	7,50	62	-1,5	6,80	34	-2,6	VT	
26	10,4	86	-0,56	6,00	30	-2,8	VT	
29	7,40	61	-1,6	7,60	38	-2,5	VT	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	23	Anzahl im AB	10
Prozent im AB	88	Prozent im AB	38

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS-F= Ridascreeen® Fast, R-Biopharm

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

88% (23) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 38% (10) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die zugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.1.2 PCR-Ergebnisse: Haselnuss

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A pos/neg	Probe A [mg/kg]	Probe B pos/neg	Probe B [mg/kg]	Qualitative Bewertung Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Methode	Hinweis
3	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
13	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
15	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
27	positiv	3,13	negativ	<1	2/2 (100%)	SFA	
8	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-4p	
11	negativ		negativ		1/2 (50%)	SFA-4p	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	6	0
Anzahl negativ	1	7
Prozent positiv	86	0
Prozent negativ	14	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

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

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung PCR: Probe A

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

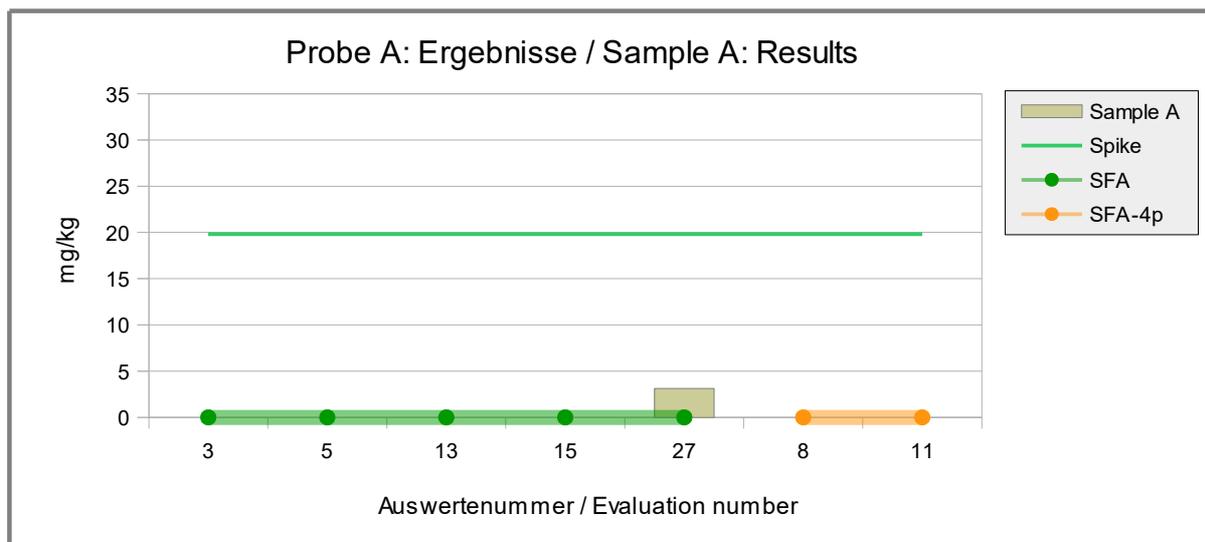


Abb./Fig. 9: PCR-Ergebnisse Haselnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Qualitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

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

Auswertenummer	Haselnuss pos/neg	Haselnuss [mg/kg]	Z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
3	positiv			SFA	
5	positiv			SFA	
13	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
27	positiv	12,1		SFA	
8	positiv			SFA-4p	
11	positiv			SFA-4p	

Anzahl positiv	7
Anzahl negativ	0
Prozent positiv	100
Prozent negativ	0
Konsenswert	positiv

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

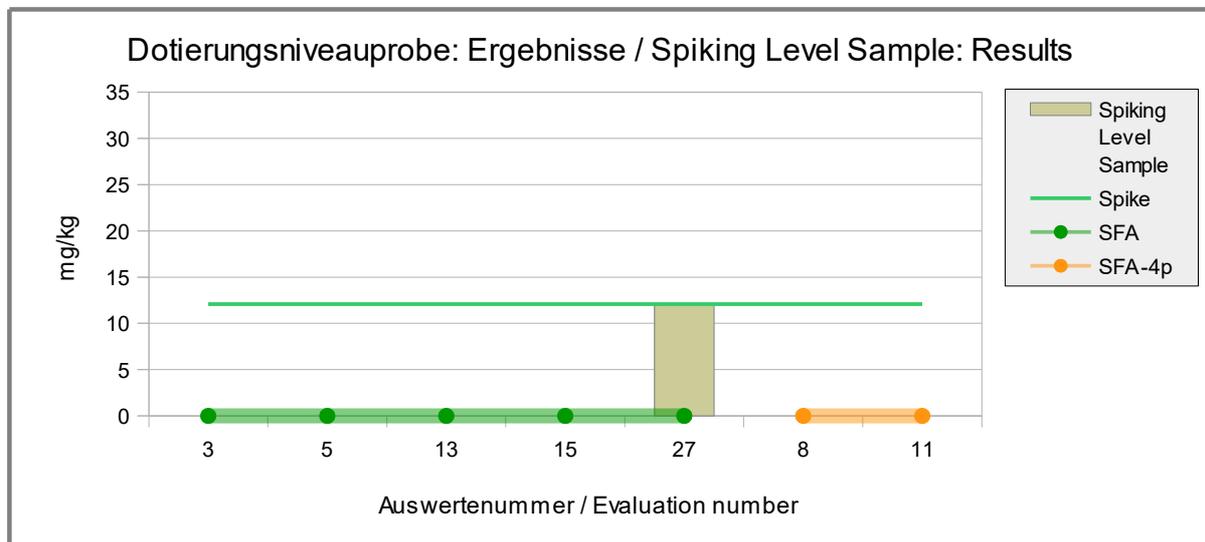


Abb./Fig. 10: PCR-Ergebnisse Haselnuss

grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)

runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

**Wiederfindungsraten mit z-Scores PCR für Haselnuss:
Dotierungsniveauprobe und Probe A**

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
3							SFA	
5							SFA	
13							SFA	
15							SFA	
27	12,1	100	0,01	3,13	16	-3,4	SFA	
8							SFA-4p	
11							SFA-4p	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	1	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	100	Prozent im AB	0

Methoden:

SFA = Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen

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

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Ein Teilnehmer hat quantitative Ergebnisse mittels PCR übermittelt und für die Dotierungsniveauprobe eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten.

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

4.2 Vergleichsuntersuchung Walnuss

4.2.1 ELISA-Ergebnisse: Walnuss

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]			
7	negativ	<2,0	negativ	<2,0	1/2 (50%)	AQ	keine Positivprobe identifiziert
14	positiv	10,6	negativ	< 6,0	2/2 (100%)	AQ	
17	positiv	8,50	negativ		2/2 (100%)	AQ	
19	positiv	9,00	negativ	<LOQ	2/2 (100%)	AQ	
25	positiv	3,80	negativ	<2	2/2 (100%)	AQ	
21	positiv	4,25	negativ	<2	2/2 (100%)	BC	
27	positiv	5,00	negativ	<2	2/2 (100%)	BC	
10	positiv	9,50	negativ	<2	2/2 (100%)	BF	
13	positiv	9,03	negativ	<1	2/2 (100%)	BF	
20	positiv	10,6	negativ	<1,0	2/2 (100%)	BF	
26	positiv	11,6	negativ	<2,0	2/2 (100%)	BF	
6	positiv	17,9	negativ	<2,4	2/2 (100%)	BK	
29	positiv	15,8	negativ	0	2/2 (100%)	BK	
12	positiv	5,68	negativ		2/2 (100%)	IL	
23	positiv	6,10	negativ	<2	2/2 (100%)	IL	
30	positiv	3,20	negativ	<2	2/2 (100%)	IL	
16	positiv	9,60	negativ	<0,6	2/2 (100%)	NL	
1	positiv	9,00	negativ	0	2/2 (100%)	SP	
2	positiv	8,40	negativ	<2,0	2/2 (100%)	SP	
4	positiv	7,50	negativ	<2	2/2 (100%)	SP	
5	positiv	7,70	negativ	<2,0	2/2 (100%)	div	

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	20	0
Anzahl negativ	1	21
Prozent positiv	95	0
Prozent negativ	5	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
 BC = BioCheck ELISA
 BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
 BK = BioKits, Neogen
 IL = Immunolab
 NL = nutriLinia® Allergen-ELISA
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

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

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A (informativ)

Die nachstehende Auswertung erfolgte rein informativ

Auswertenummer	Walnuss [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL} Info	Methode	Hinweis
7	<2,0		AQ	
14	10,6	1,0	AQ	
17	8,50	0,05	AQ	
19	9,00	0,28	AQ	
25	3,80	-2,2	AQ	
21	4,25	-2,0	BC	
27	5,00	-1,6	BC	
10	9,50	0,52	BF	
13	9,03	0,30	BF	
20	10,6	1,0	BF	
26	11,6	1,5	BF	
6	17,9	4,5	BK	
29	15,8	3,5	BK	
12	5,68	-1,3	IL	
23	6,10	-1,1	IL	
30	3,20	-2,5	IL	
16	9,60	0,57	NL	
1	9,00	0,28	SP	
2	8,40	0,00	SP	
4	7,50	-0,43	SP	
5	7,70	-0,34	div	

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

div = keine genaue Angabe / andere Methode

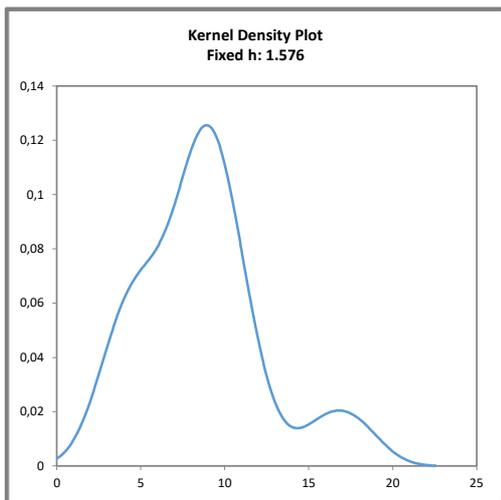


Abb. / Fig. 11:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer Schulter bei etwa < 7 mg/kg (Methoden BC und IL) und einem Nebenpeak bei ca. 17 mg/kg (Methode BK).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Walnuss

Die nachstehende Auswertung erfolgte rein informativ

Probe A

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}
Anzahl der Messergebnisse	20
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	8,64
Median	8,75
Robuster Mittelwert (X_{pt})	8,41
Robuste Standardabweichung (S^*)	3,24
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	2,10
Untere Grenze des Zielbereichs	4,20
Obere Grenze des Zielbereichs	12,6
Quotient S^*/σ_{pt}	1,5
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,906
Ergebnisse im Zielbereich	16
Prozent im Zielbereich	80

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse für den Hauptpeak mit Hinweisen auf mögliche methodenabhängige Unterschiede. Die gemeinsame methodenübergreifende Auswertung erfolgt daher rein informativ. Der sich ergebende Zielbereich besitzt keine Gültigkeit für die Einzelmethode. Da jeweils < 5 Einzelergebnisse pro Methode vorlagen, wurden keine separaten Auswertungen durchgeführt.

Die Auswertung der Ergebnisse aller Methoden zeigte eine normale Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision und 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen).

Der robuste Mittelwert der Auswertung lag mit 41% vom Zusatzniveau von Walnuss zu Probe A, unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.45 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Walnuss").

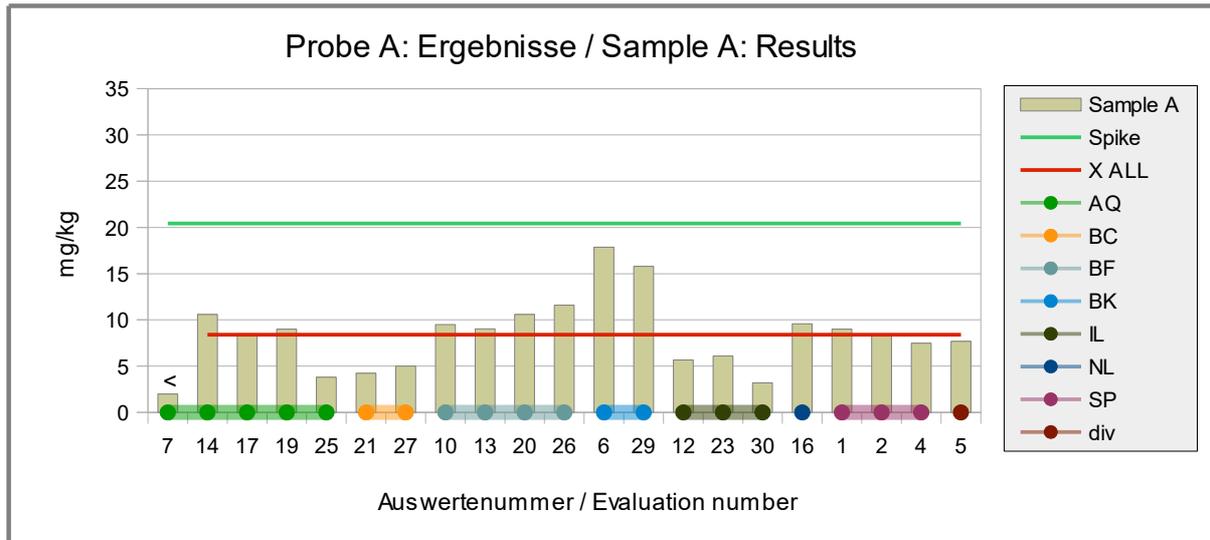


Abb./Fig. 12: ELISA-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

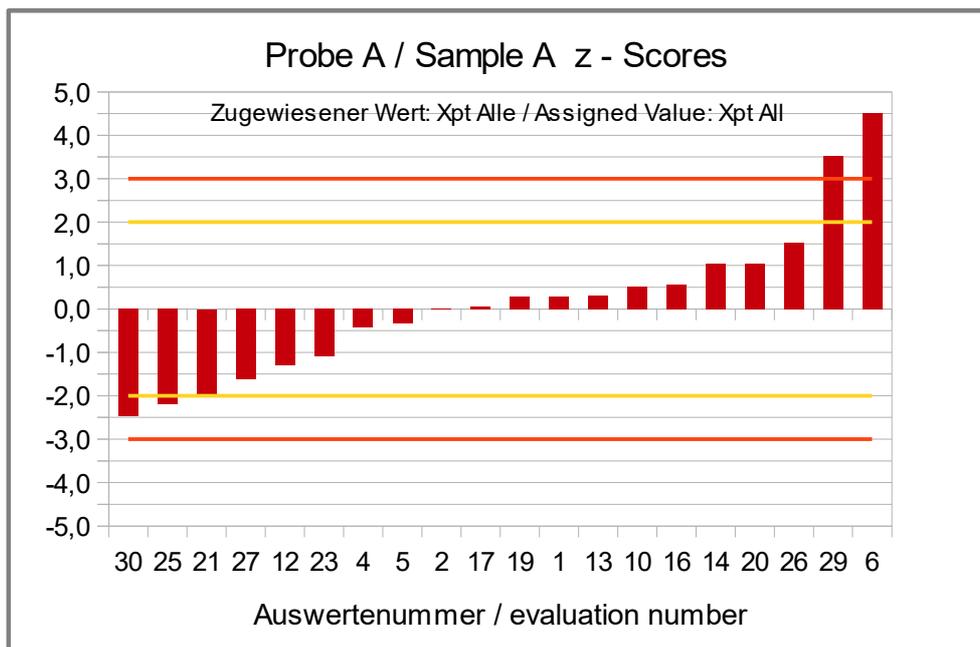


Abb./Fig. 13:
 z-Scores zur Information (ELISA-Ergebnisse als Walnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Walnuss [mg/kg]	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{AQ}	Methode	Hinweis
7	26,8	-1,1	-1,6	AQ	
14	56,2	2,1	1,1	AQ	
17	42,4	0,62	-0,19	AQ	
19	55,0	2,0	0,95	AQ	
25	41,9	0,56	-0,23	AQ	
21	35,7	-0,11		BC	
27	41,5	0,53		BC	
10	5,00			BF	
13	18,3			BF	
20	13,6			BF	
26	14,4			BF	
6	72,5	3,9		BK	
29	38,4	0,18		BK	
12	64,4	3,0		IL	
23	51,8	1,6		IL	
30	9,00	-3,0		IL	
16	35,0	-0,19		NL	
1	>60			SP	
2	43,1	0,69		SP	
4	35,0	-0,19		SP	
5	38,4	0,18		div	

Methoden:

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- BC = BioCheck ELISA
- BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies
- BK = BioKits, Neogen
- IL = Immunolab
- NL = nutrLinia® Allergen-ELISA
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- div = keine genaue Angabe / andere Methode

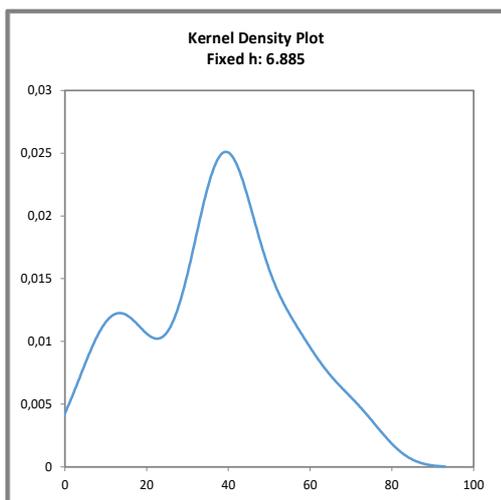


Abb. / Fig. 14:

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 annähernd eine symmetrische Verteilung des Hauptpeaks mit einem Nebenpeak bei ca. 17 mg/kg (Methode BF) und einem breiten Verlauf bei etwa > 55 mg/kg.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Walnuss**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode AQ [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ AQ}$
Anzahl der Messergebnisse	16 [°]	5
Anzahl der Ausreißer	4	0
Mittelwert	42,9	44,5
Median	41,7	42,4
Robuster Mittelwert (X_{pt})	43,2	44,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,4	13,6
<i>Zielkenndaten:</i>		
Zielstandardabweichung σ_{pt}	10,8	11,1
Untere Grenze des Zielbereichs	21,6	22,2
Obere Grenze des Zielbereichs	64,8	66,7
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	1,2
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	4,20	7,58
Ergebnisse im Zielbereich	14	5
Prozent im Zielbereich	88	100

[°] ohne Ergebnisse Nr. 10, 13, 20 und 26 (vorab ausgeschlossen)

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte methodenabhängige Unterschiede bezüglich Methode BF, diese wurde daher von der Auswertung ausgeschlossen. Da für diese Methode < 5 Einzelergebnisse vorlagen, wurde keine separate Auswertung durchgeführt.

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

Die robusten Mittelwerte der Auswertungen lagen mit 361% bzw. 372% vom Zusatzniveau von Walnuss zur Dotierungsniveauprobe deutlich oberhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.45 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Walnuss").

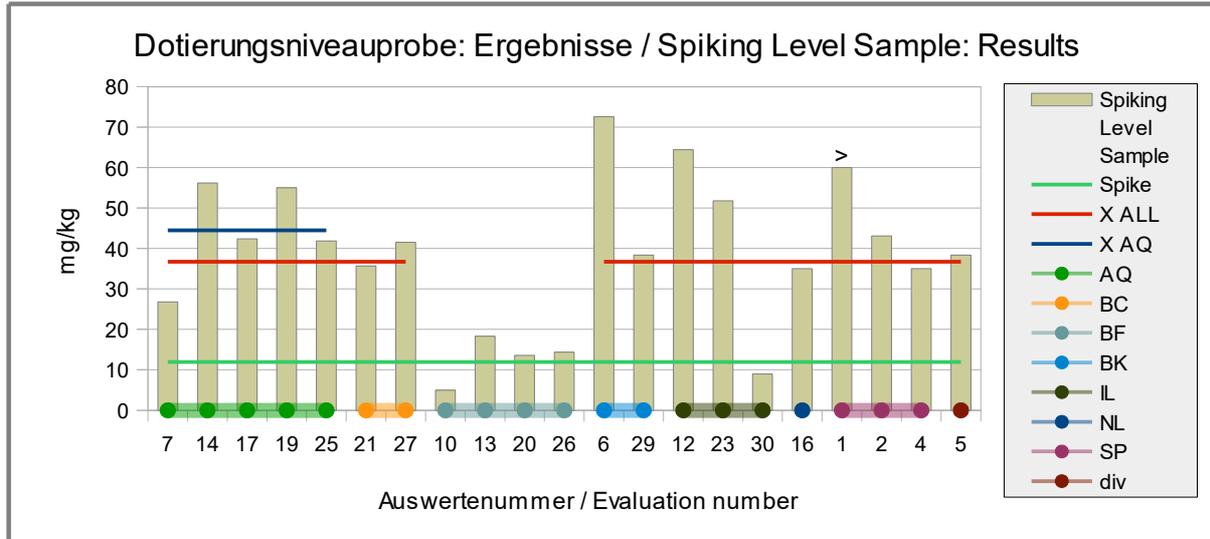


Abb./Fig. 15: ELISA-Ergebnisse Walnuss
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse AQ
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

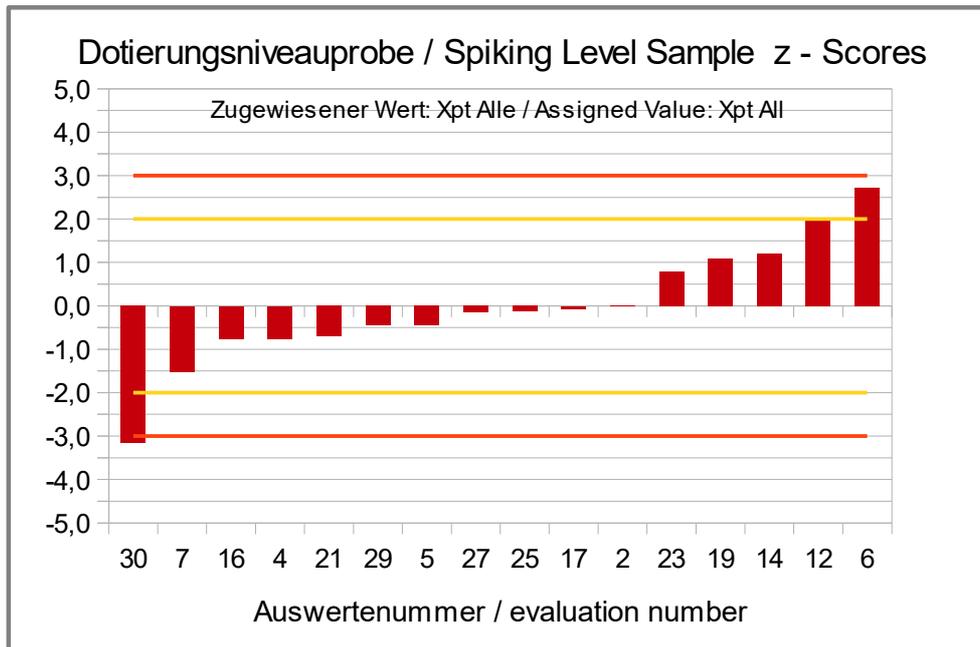


Abb./Fig. 16:
 z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Walnuss)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

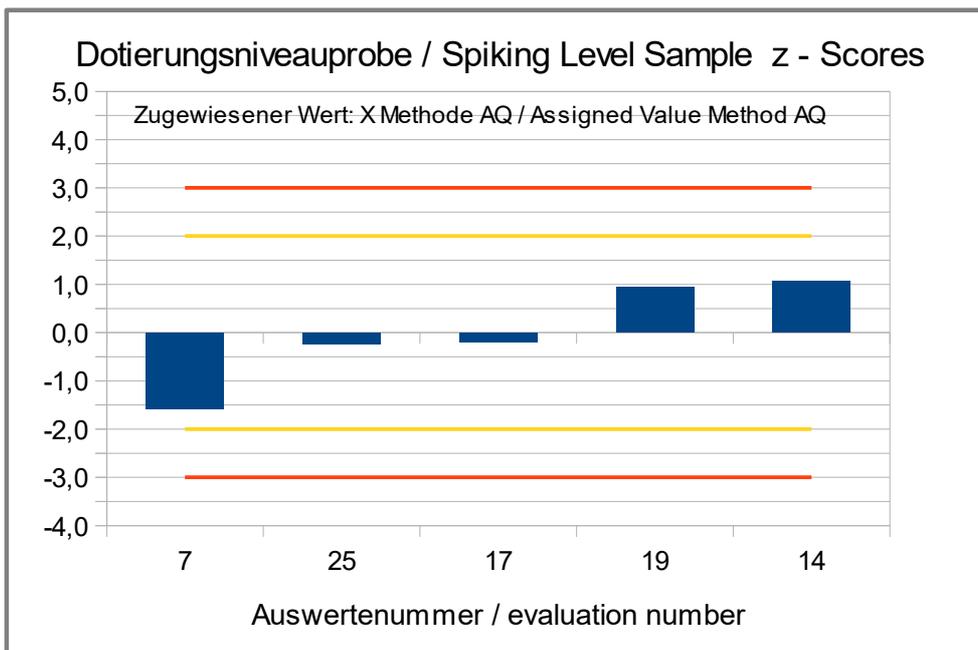


Abb./Fig. 17:
z-Scores (ELISA-Ergebnisse als Walnuss) Bezugswert robuster Mittelwert
Ergebnisse Methode AQ (AgraQuant, RomerLabs)

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
7	26,8	224	5,0	<2,0			AQ	
14	56,2	470	15	10,6	52	-1,9	AQ	
17	42,4	355	10	8,50	42	-2,3	AQ	
19	55,0	460	14	9,00	44	-2,2	AQ	
25	41,9	350	10	3,80	19	-3,3	AQ	
21	35,7	298	7,9	4,25	21	-3,2	BC	
27	41,5	347	9,9	5,00	24	-3,0	BC	
10	5,00	42	-2,3	9,50	47	-2,1	BF	
13	18,3	153	2,1	9,03	44	-2,2	BF	
20	13,6	114	0,55	10,6	52	-1,9	BF	
26	14,4	120	0,82	11,6	57	-1,7	BF	
6	72,5	607	20	17,9	87	-0,50	BK	
29	38,4	321	8,8	15,8	77	-0,91	BK	
12	64,4	539	18	5,68	28	-2,9	IL	
23	51,8	433	13	6,10	30	-2,8	IL	
30	9,00	75	-1,0	3,20	16	-3,4	IL	
16	35,0	293	7,7	9,60	47	-2,1	NL	
1	>60			9,00	44	-2,2	SP	
2	43,1	360	10	8,40	41	-2,4	SP	
4	35,0	293	7,7	7,50	37	-2,5	SP	
5	38,4	321	8,8	7,70	38	-2,5	div	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	3	Anzahl im AB	5
Prozent im AB	15	Prozent im AB	25

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

BC = BioCheck ELISA

BF = MonoTrace ELISA, BioFront Technologies

BK = BioKits, Neogen

IL = Immunolab

NL = nutriLinia® Allergen-ELISA

SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

15% (3) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen 25% (5) der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich. Die dazugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25%.

4.2.2 PCR-Ergebnisse: Walnuss

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		
3	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
5	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
11	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
15	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
27	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA	
8	negativ		negativ		1/2 (50%)	SFA-4p	keine Positivprobe identifiziert
13	positiv		negativ		2/2 (100%)	SFA-ID	
4	positiv		negativ		2/2 (100%)	div	
16	negativ		negativ		1/2 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

	Probe A	Probe B
Anzahl positiv	7	0
Anzahl negativ	2	9
Prozent positiv	78	0
Prozent negativ	22	100
Konsenswert	positiv	negativ

Methoden:

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

Anmerkung:

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

Jeweils ein negatives Ergebnis für Probe A wurde mit der Methode SFA-4p (Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen) und einer nicht spezifisch angegebenen Methode erhalten.

Qualitative Auswertung PCR: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Walnuss	Walnuss	z-Score Xpt _{ALL}	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]			
3	positiv			SFA	
5	positiv			SFA	
11	positiv			SFA	
15	positiv			SFA	
27	positiv			SFA	
8	positiv			SFA-4p	
13	positiv			SFA-ID	
4	positiv			div	
16	positiv			div	

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

Methoden:

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

Anmerkung:

Für die Dotierungsniveauprobe wurden 100% positive Ergebnisse erhalten.

Quantitative Auswertung PCR: Probe A und Dotierungsniveauprobe

Es wurden keine quantitativen Ergebnisse von den Teilnehmern erreicht.

4.3 Vergleichsuntersuchung Ei

4.3.1 ELISA-Ergebnisse: Ei (als Volleipulver)

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		
19	negativ	<LOQ	negativ	<LOQ	1/2 (50%)	AQ-P	keine Positivprobe identifiziert
25	negativ	<1,54	negativ	<1,54	1/2 (50%)	AQ-P	keine Positivprobe identifiziert / Ergebnis umgerechnet °
30	positiv	<1,54	negativ	<1,54	2/2 (100%)	IL	Ergebnis umgerechnet °
2	positiv	4,14	negativ	<0,66	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
4	positiv	4,05	negativ	<0,66	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
6	positiv	3,35	negativ	<0,66	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
10	positiv	8,85	negativ	<3,85	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13	positiv	6,92	negativ	<3,85	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
26	positiv	6,18	negativ	<0,66	2/2 (100%)	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
16	positiv	3,11	negativ	<0,13	2/2 (100%)	RS	
21	positiv	3,48	negativ	<0,25	2/2 (100%)	RS	
24	positiv	4,60	negativ	<0,25	2/2 (100%)	RS	
27a	positiv	3,05	negativ	<0,25	2/2 (100%)	RS	
28	positiv	3,30	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS	
7	negativ	<0,5	negativ	<0,5	1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert
8	positiv	0,290	negativ	0,0300	2/2 (100%)	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
9	positiv	<0,5	negativ		2/2 (100%)	RS-F	
11	negativ	<1,07	negativ	<1,07	1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert / Ergebnis umgerechnet °
12	negativ		negativ		1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert
18	negativ	<1,15	negativ	<1,15	1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert / Ergebnis umgerechnet °
20	negativ	<0,5	negativ	<0,5	1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert
23	negativ	<0,5	negativ	<0,5	1/2 (50%)	RS-F	keine Positivprobe identifiziert
27b	positiv	0,370	negativ	<0,5	2/2 (100%)	RS-F	
22	positiv	<1	negativ	<0,5	2/2 (100%)	VT	
29	negativ	0	negativ	0	1/2 (50%)	VT	keine Positivprobe identifiziert
5	negativ	<0,5	negativ	<0,5	1/2 (50%)	div	keine Positivprobe identifiziert

° Umrechnung S. 19

	Probe A	Probe B	
Anzahl positiv	16	0	
Anzahl negativ	10	26	
Prozent positiv	62	0	
Prozent negativ	38	100	
Konsenswert	keiner	negativ	

Methoden:

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs
 IL = Immunolab
 MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
 RS = Ridascreen®, R-Biopharm
 RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm
 VT = Veratox, Neogen
 div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

Für Probe A wurde kein Konsenswert für die verschiedenen ELISA-Methoden von mindestens 75% übereinstimmenden Ergebnissen erhalten. Während für die Ergebnisse der Methoden MI-II (Morinaga) und RS (R-Biopharm) zu 100% positive Ergebnisse erhalten wurden, lagen die Ergebnisse für alle anderen Methoden an oder unterhalb der jeweiligen Bestimmungsgrenze (vgl. Dokumentation).

Der negative Konsenswert von Probe B steht in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe A.

Quantitative Auswertung ELISA: Probe A

Auswertenummer	Volleipulver	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{MI-II}	z-Score Xpt _{RS}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]					
19	<LOQ				AQ-P	
25	<1,54				AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
30	<1,54				IL	Ergebnis umgerechnet °
2	4,14	-0,30	-1,0		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
4	4,05	-0,38	-1,1		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
6	3,35	-1,0	-1,6		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
10	8,85	3,9	2,3		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13	6,92	2,2	1,0		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
26	6,18	1,5	0,43		MI-II	Ergebnis umgerechnet °
16	3,11	-1,2		-0,39	RS	
21	3,48	-0,89		0,04	RS	
24	4,60	0,11		1,3	RS	
27a	3,05	-1,3		-0,46	RS	
28	3,30	-1,1		-0,17	RS	
7	<0,5				RS-F	
8	0,290				RS-F	Ausreißer / Ergebnis umgerechnet °
9	<0,5				RS-F	
11	<1,07				RS-F	Ergebnis umgerechnet °
12					RS-F	
18	<1,15				RS-F	Ergebnis umgerechnet °
20	<0,5				RS-F	
23	<0,5				RS-F	
27b	0,370				RS-F	Ausreißer / Ergebnis umgerechnet °
22	<1				VT	
29	0				VT	
5	<0,5				div	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

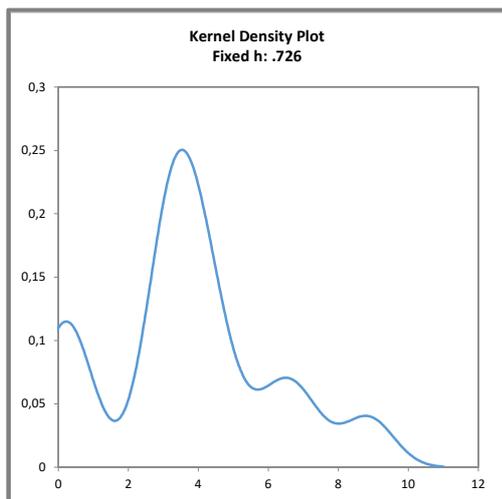


Abb. / Fig. 18:

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 annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse des Hauptpeaks mit einem Nebenpeak bei etwa 0,2 mg/kg (Ausreißer mit den Methoden RS-F und VT) und 2 weiteren Nebenpeaks bei ca. 6,5 mg/kg und 9 mg/kg, die auf die Methode MI-II zurückzuführen sind.

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Ei (als Volleipulver)**Probe A**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode MI-II [mg/kg]	Methode RS [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	X_{pt_ALL}	$X_{pt_METHOD\ MI-II}$	$X_{pt_METHOD\ RS}$
Anzahl der Messergebnisse	11 [°]	6	5
Anzahl der Ausreißer	2	0	0
Mittelwert	4,64	5,58	3,51
Median	4,05	5,16	3,30
Robuster Mittelwert (X_{pt})	4,48	5,58	3,44
Robuste Standardabweichung (S^*)	1,74	2,39	0,561
<i>Zielkenndaten:</i>			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	1,12	1,40	0,861
Untere Grenze des Zielbereichs	2,24	2,79	1,72
Obere Grenze des Zielbereichs	6,72	8,37	5,16
Quotient S^*/σ_{pt}	1,6	1,7	0,65
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	0,656	1,22	0,313
Ergebnisse im Zielbereich	9	5	5
Prozent im Zielbereich	82	83	100

[°] ohne Ergebnisse 8 und 27b (vorab ausgeschlossen)

Methoden:

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = R-Biopharm, Ridascreen®

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die qualitativen Ergebnisse sowie die Kerndichte-Schätzung zeigten methodenabhängige Unterschiede. Quantitative Ergebnisse über den Bestimmungsgrenzen der Methoden lagen nur für die Methoden MI-II und RS vor, deren Ergebnisse wurden sowohl gemeinsam als auch getrennt nach Methoden ausgewertet.

Die Auswertungen der Ergebnisse aller Methoden (MI-II und RS) sowie von Methode MI-II und Methode RS zeigten eine normale oder geringe Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag jeweils unter 2,0 oder 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 22%, 27% und 17% vom Zusatzniveau von Ei zu Probe A, unterhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S. 60 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Ei").

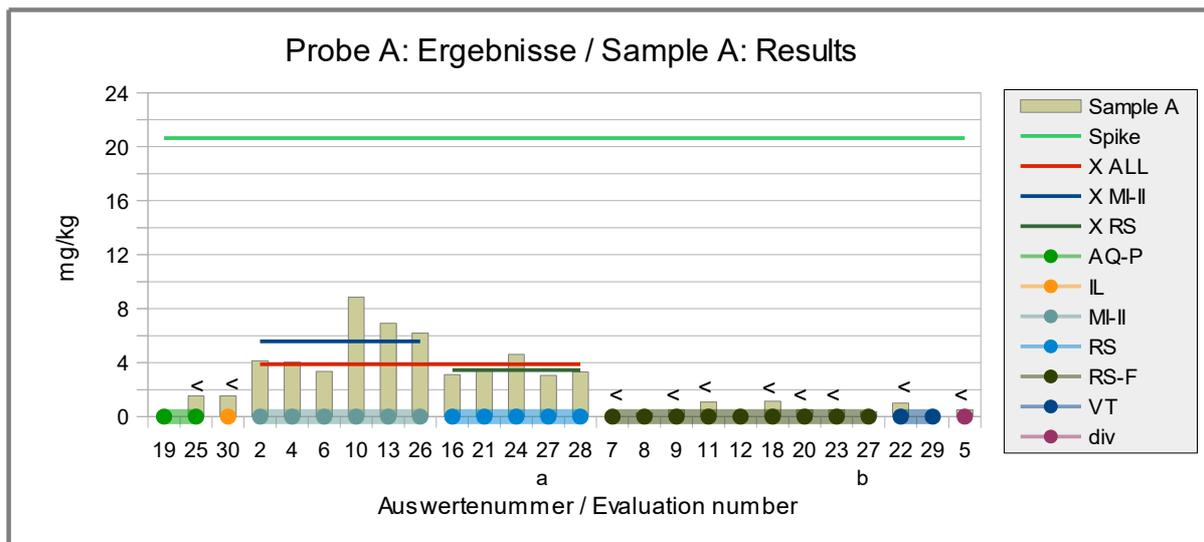


Abb./Fig. 19: ELISA-Ergebnisse Ei (als Volleipulver)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode MI-II
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

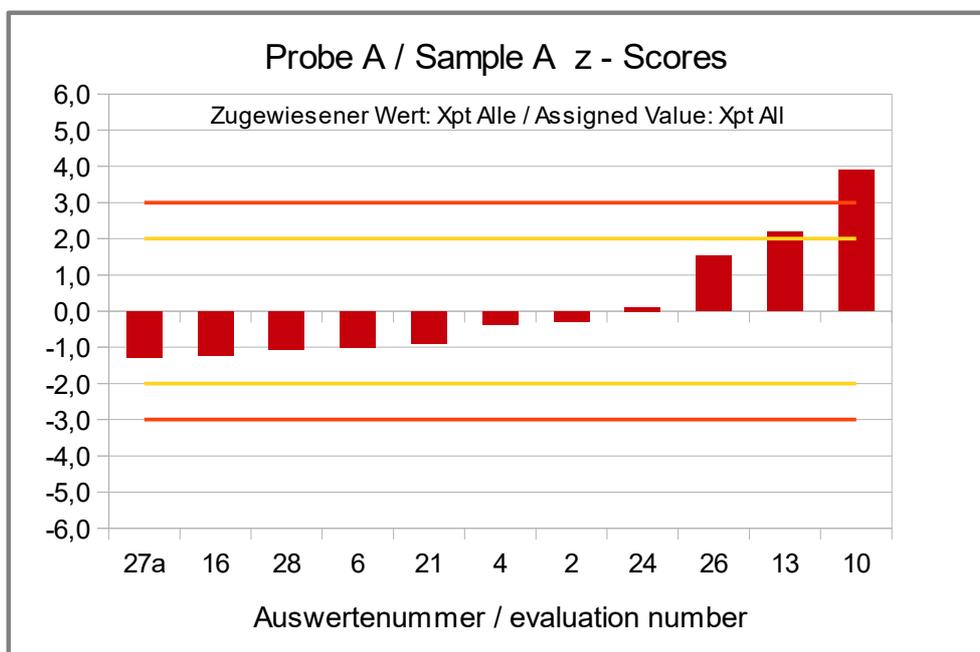


Abb./Fig. 20: z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

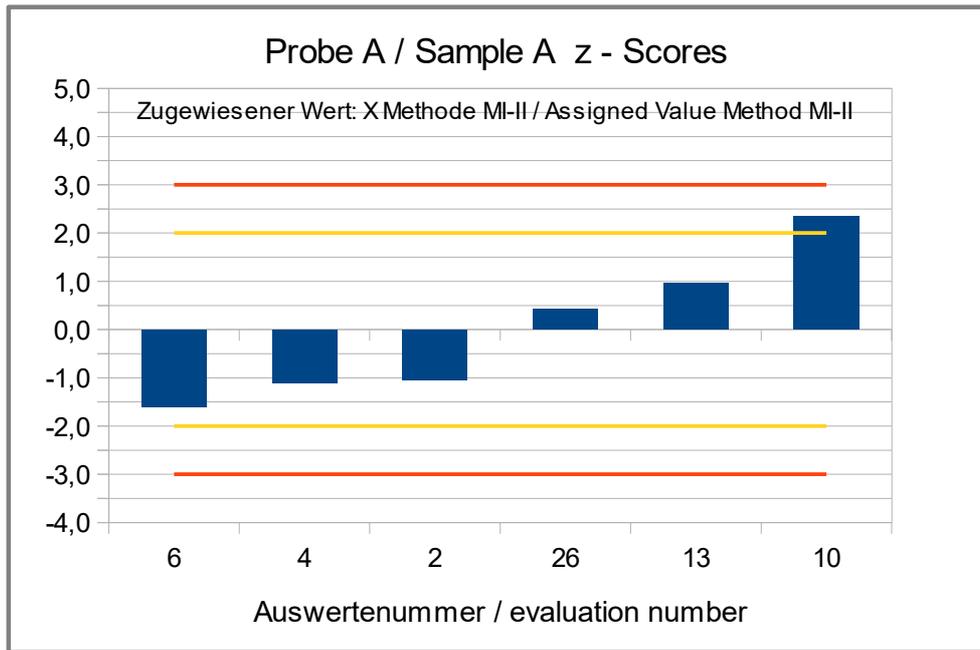


Abb./Fig. 21:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode MI-II (Morinaga Institute ELISA Kit II)

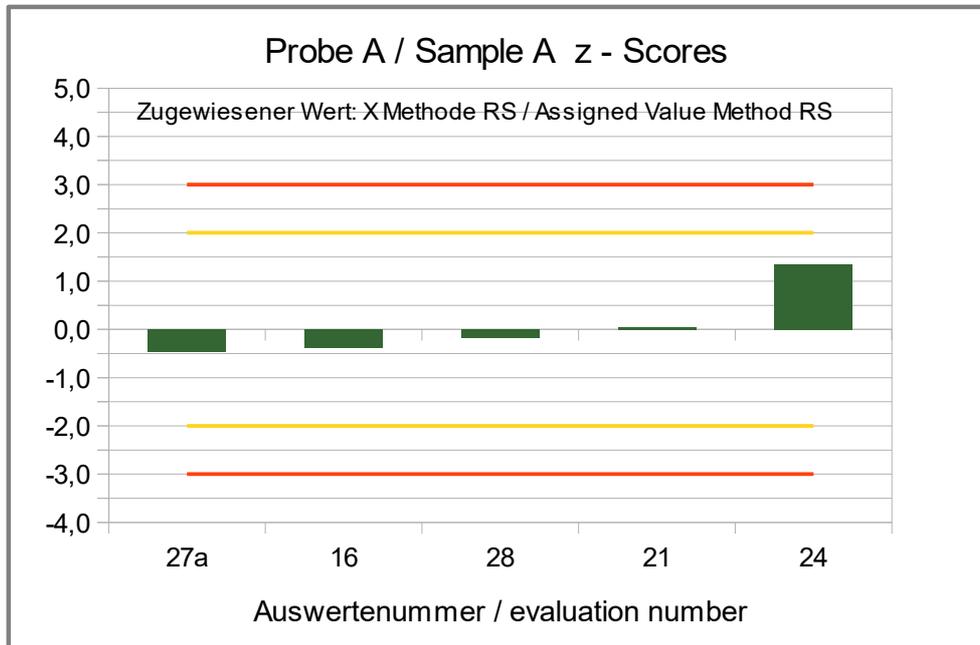


Abb./Fig. 22:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS (R-Biopharm, Ridascreen®)

Quantitative Auswertung ELISA: Dotierungsniveauprobe

Auswertenummer	Volleipulver	z-Score Xpt _{ALL}	z-Score Xpt _{MI-II}	z-Score Xpt _{RS}	z-Score Xpt _{RS-F}	Methode	Hinweis
	[mg/kg]						
19	20,0	1,8				AQ-P	
25	15,4	0,44				AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
30	8,88	-1,4				IL	Ergebnis umgerechnet °
2	13,2	-0,18	0,22			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
4	12,8	-0,31	0,08			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
6	10,9	-0,85	-0,52			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
10	11,9	-0,56	-0,20			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13	19,5	1,6	2,2			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
26	11,1	-0,80	-0,46			MI-II	Ergebnis umgerechnet °
16	13,9	0,01		0,10		RS	
21	14,6	0,20		0,29		RS	
24	15,7	0,52		0,62		RS	
27a	12,7	-0,33		-0,25		RS	
28	11,0	-0,83		-0,76		RS	
7	10,0	-1,1			-0,86	RS-F	
8	12,5	-0,40			-0,08	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
9	10,2	-1,1			-0,79	RS-F	
11	22,6	2,5			3,1	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
12	10,8	-0,89			-0,61	RS-F	
18	13,1	-0,21			0,13	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
20	7,40	-1,9			-1,7	RS-F	
23	14,2	0,10			0,47	RS-F	
27b	17,3	1,0			1,4	RS-F	
22	24,0	2,9				VT	
29	80,8	19				VT	Ergebnis umgerechnet °
5	12,7	-0,33				div	

° Umrechnung S. 19

Methoden:

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

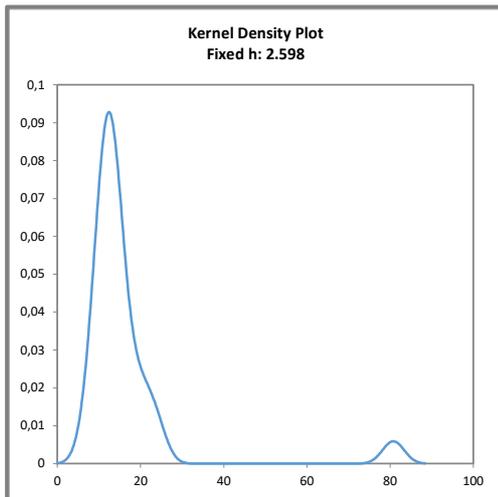


Abb. / Fig. 23:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit einer leichten Schulter bei > 20 mg/kg und einem Nebenpeak bei ca. 80 mg/kg, der auf einen hohen Einzelwert zurückgeht (Methode VT).

Kenndaten: Quantitative Auswertung ELISA Ei (als Volleipulver)**Dotierungsniveauprobe**

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode MI-II [mg/kg]	Methode RS [mg/kg]	Methode RS-F [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt_{ALL}}$	$X_{pt_{METHOD MI-II}}$	$X_{pt_{METHOD RS}}$	$X_{pt_{METHOD RS-F}}$
Anzahl der Messergebnisse	26	6	5	9
Anzahl der Ausreißer	–	–	0	0
Mittelwert	16,4	13,2	13,6	13,1
Median	13,0	12,4	13,9	12,5
Robuster Mittelwert (X_{pt})	13,9	12,5	13,6	12,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	4,20	1,86	2,02	4,18
Zielkenndaten:				
Zielstandardabweichung σ_{pt}	3,46	3,14	3,39	3,18
Untere Grenze des Zielbereichs	6,93	6,27	6,78	6,36
Obere Grenze des Zielbereichs	20,8	18,8	20,3	19,1
Quotient S^*/σ_{pt}	1,2	0,59	0,60	1,3
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,03	0,950	1,13	1,74
Ergebnisse im Zielbereich	23	5	5	8
Prozent im Zielbereich	88	83	100	89

Methoden:

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = R-Biopharm, Ridascreen® Fast

Anmerkungen zu den Kenndaten und Vergleich der Bezugswerte:

Die Kerndichte-Schätzung zeigte keine eindeutigen methodenabhängigen Unterschiede (ein hoher Einzelwert mit Methode VT).

Die Verteilung der Ergebnisse aller Methoden sowie für die Methoden MI-II, RS und RS-F zeigte jeweils eine normale bzw. geringe Variabilität. Die Quotienten S^*/σ_{pt} lagen unter 2,0 bzw. 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 107%, 96%, 104% und 97% vom Zusatzniveau von Ei zur Dotierungsniveauprobe innerhalb der relevanten Anforderungen für die eingesetzten Methoden (s. 3.4.3 und S.60 "Wiederfindungsraten mit z-Scores ELISA für Ei").

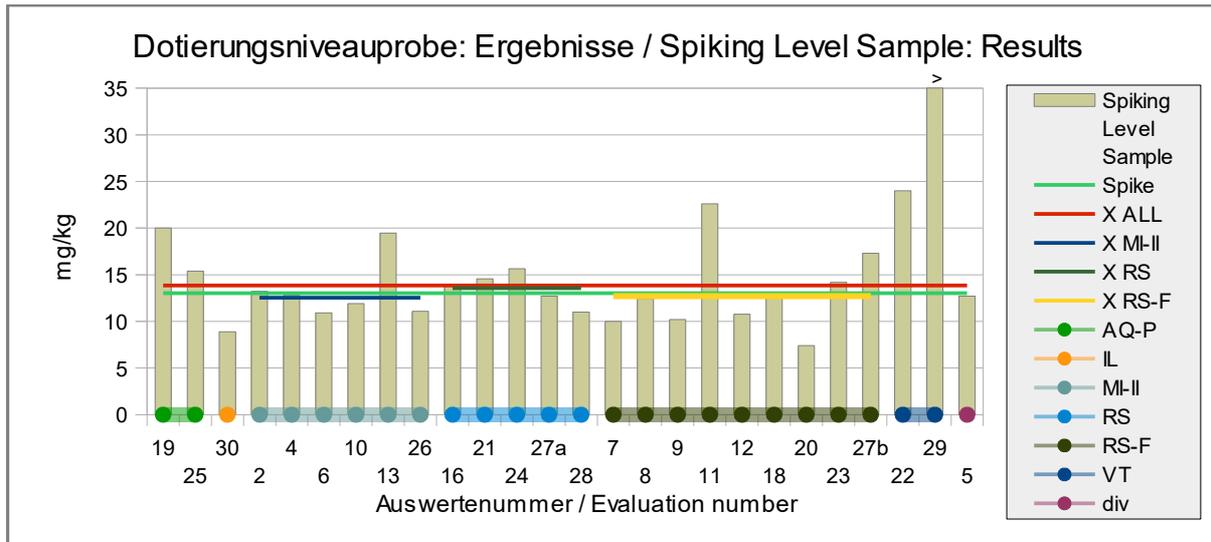


Abb./Fig. 24: ELISA-Ergebnisse Ei (als Volleipulver)
 grüne Linie = Zusatzniveau (Spike)
 rote Linie = robuster Mittelwert aller Ergebnisse
 blaue Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode MI-II
 dunkelgrüne Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS
 gelbe Linie = robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS-F
 runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

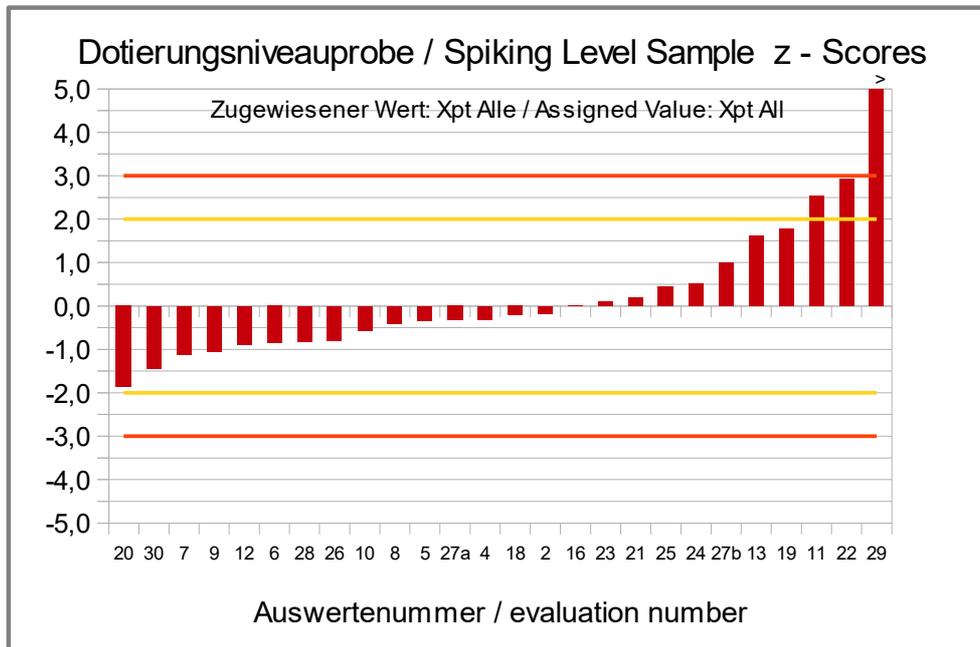


Abb./Fig. 25:
 z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver)
 Zugewiesener Wert: robuster Mittelwert aller Ergebnisse

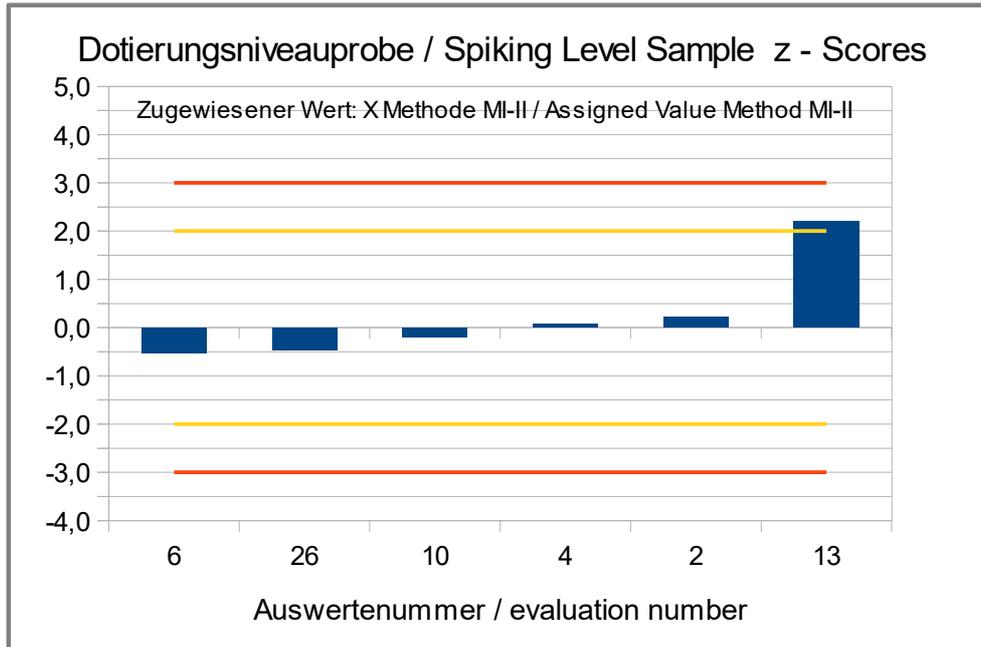


Abb./Fig. 26:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode MI-II (Morinaga Institute ELISA Kit II)

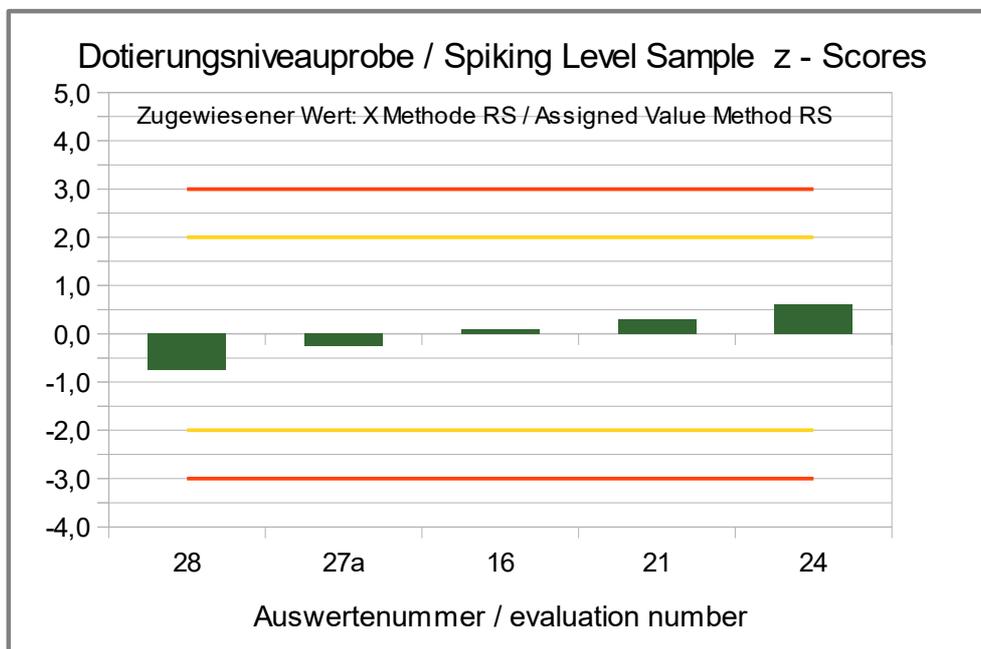


Abb./Fig. 27:

z-Scores ELISA-Ergebnisse als Ei (als Volleipulver) Bezugswert robuster Mittelwert Ergebnisse Methode RS (Ridascreen®, R-Biopharm)

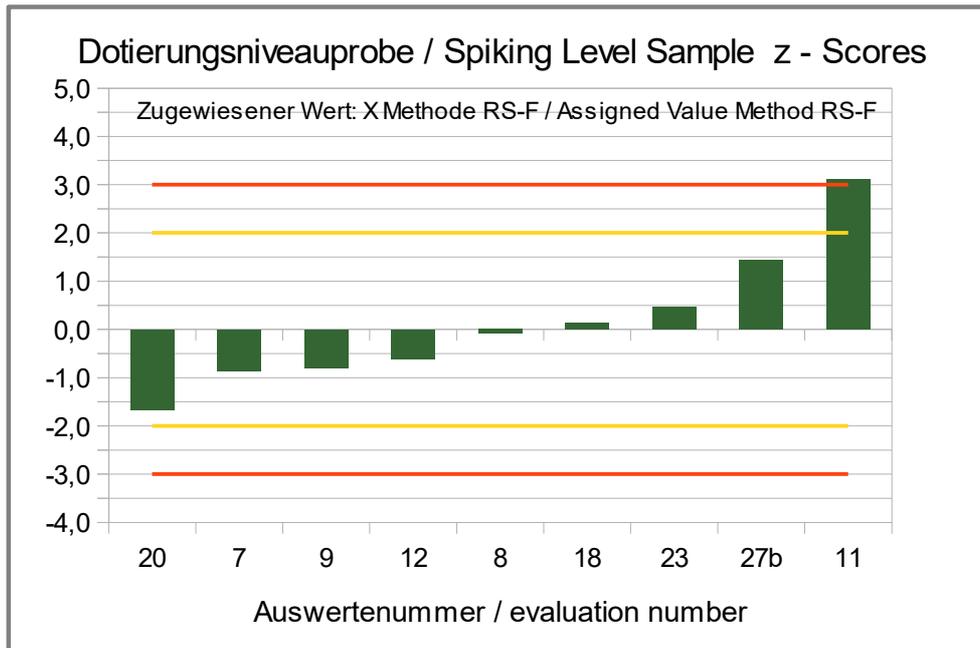


Abb./Fig. 28:

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

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

Auswertenummer	Dotierungsniveauprobe	Wiederfindungsrate*		Probe A	Wiederfindungsrate*		Methode	Hinweis
		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		[mg/kg]	[%] [Z _{RR}]		
19	20,0	153	2,1	<LOQ			AQ-P	
25	15,4	118	0,72	<1,54			AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
30	8,88	68	-1,3	<1,54			IL	Ergebnis umgerechnet °
2	13,2	101	0,06	4,14	20	-3,2	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
4	12,8	98	-0,07	4,05	20	-3,2	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
6	10,9	84	-0,65	3,35	16	-3,4	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
10	11,9	91	-0,34	8,85	43	-2,3	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
13	19,5	149	2,0	6,92	34	-2,7	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
26	11,1	85	-0,60	6,18	30	-2,8	MI-II	Ergebnis umgerechnet °
16	13,9	107	0,27	3,11	15	-3,4	RS	
21	14,6	112	0,47	3,48	17	-3,3	RS	
24	15,7	120	0,80	4,60	22	-3,1	RS	
27a	12,7	98	-0,10	3,05	15	-3,4	RS	
28	11,0	84	-0,62	3,30	16	-3,4	RS	
7	10,0	77	-0,93	<0,5			RS-F	
8	12,5	96	-0,17	0,290	1,4	-3,9	RS-F	Ergebnis umgerechnet °
9	10,2	78	-0,87	<0,5			RS-F	
11	22,6	173	2,9	<1,07			RS-F	Ergebnis umgerechnet °
12	10,8	83	-0,69				RS-F	
18	13,1	101	0,03	<1,15			RS-F	Ergebnis umgerechnet °
20	7,40	57	-1,7	<0,5			RS-F	
23	14,2	109	0,36	<0,5			RS-F	
27b	17,3	133	1,3	0,370	1,8	-3,9	RS-F	
22	24,0	184	3,4	<1			VT	
29	80,8	620	21	0			VT	Ergebnis umgerechnet °
5	12,7	97	-0,10	<0,5			div	

° Umrechnung S. 19

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl im AB	22	Anzahl im AB	0
Prozent im AB	85	Prozent im AB	0

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

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Methoden:

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

IL = Immunolab

MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II

RS = Ridascreen®, R-Biopharm

RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

div = keine genaue Angabe / andere Methode

Anmerkung:

85% (22) der Teilnehmer haben mit der Dotierungsniveauprobe mittels ELISA eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Für die prozessierte dotierte Lebensmittelmatrix-Probe A lagen keine der Wiederfindungsraten in diesem Akzeptanzbereich, wobei die Wiederfindungsraten für die Methoden MI-II und RS im Bereich $\geq 15\%$ lagen. Die dazugehörigen z-Scores basieren auf der Zielstandardabweichung von 25 %.

4.3.2 PCR-Ergebnisse: Ei

Auswertung PCR: Probe A und Dotierungsniveauprobe

Es wurden keine Ergebnisse von den Teilnehmern eingereicht.

4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

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

Auswertenummer	ELISA Haselnuss: Xpt (div. Methoden)		ELISA Haselnuss: Xpt (Methode: RS-F)		ELISA Walnuss: Xpt (div. Methoden)		ELISA Walnuss: Xpt (Methode: AQ)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1	1,8	0,23			0,28			
2	-0,63	0,61			0,00	0,69		
3								
4	0,32	-1,8			-0,43	-0,19		
5		0,19	-1,2	-0,40	-0,34	0,18		
6		1,8	-0,59	0,98	4,5	3,9		
7		1,1	0,99	0,36		-1,1		-1,6
8								
9		0,80	0,26	0,13				
10		-3,0	-0,92	-3,2	0,52			
11								
12	-0,60	-1,0			-1,3	3,0		
13	0,01	2,9			0,30			
14	0,21	-1,5			1,0	2,1		1,1
15								
16		1,6	0,66	0,78	0,57	-0,19		
17		-0,70	-0,33	-1,2	0,05	0,62		-0,19
18		1,3	0,27	0,59				
19	-0,76	-0,16			0,28	2,0		0,95
20		-0,23	-0,23	-0,77	1,0			
21	0,03	0,01			-2,0	-0,11		
22	0,40	-1,1						
23	0,01	-0,50			-1,1	1,6		
24		1,1	0,48	0,34				
25	0,21	-0,39			-2,2	0,56		-0,23
26	-0,12	0,00			1,5			
27		1,2	0,75	0,48	-1,6	0,53		
28		0,61	-0,19	-0,04				
29	0,92	-1,2			3,5	0,18		
30	-1,3	-3,0			-2,5	-3,0		

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

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)

Auswertenummer	ELISA Ei: Xpt (div. Methoden)		ELISA Ei: Xpt (Methode: MI-II)		ELISA Ei: Xpt (Methode: RS)		ELISA Ei: Xpt (Methode: RS-F)	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1								
2	-0,30	-0,18	-1,0	0,22				
3								
4	-0,38	-0,31	-1,1	0,08				
5		-0,33						
6	-1,0	-0,85	-1,6	-0,52				
7		-1,1						-0,86
8		-0,40						-0,08
9		-1,1						-0,79
10	3,9	-0,56	2,3	-0,20				
11		2,5						3,1
12		-0,89						-0,61
13	2,2	1,6	1,0	2,2				
14								
15								
16	-1,2	0,01			-0,39	0,10		
17								
18		-0,21						0,13
19		1,8						
20		-1,9						-1,7
21	-0,89	0,20			0,04	0,29		
22		2,9						
23		0,10						0,47
24	0,11	0,52			1,3	0,62		
25		0,44						
26	1,5	-0,80	0,43	-0,46				
27a	-1,3	-0,33			-0,46	-0,25		
27b		1,0						1,4
28	-1,1	-0,83			-0,17	-0,76		
29		19						
30		-1,4						

Methoden: MI-II = Morinaga Institute ELISA Kit II
RS = Ridascreen®, R-Biopharm
RS-F = Ridascreen® Fast, R-Biopharm

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 Haselnuss		ELISA Walnuss		ELISA Ei		PCR Haselnuss	
	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe	Probe A	Dot. Probe
1	-2,2	-0,36	-2,2					
2	-3,0	-0,03	-2,4	10	-3,2	0,06		
3								
4	-2,7	-2,1	-2,5	7,7	-3,2	-0,07		
5	-2,3	-0,40	-2,5	8,8		-0,10		
6	-2,0	1,0	-0,50	20	-3,4	-0,65		
7	-1,1	0,36		5,0		-0,93		
8					-3,9	-0,17		
9	-1,5	0,13				-0,87		
10	-2,2	-3,2	-2,1	-2,3	-2,3	-0,34		
11						2,9		
12	-2,9	-1,4	-2,9	18		-0,69		
13	-2,7	1,9	-2,2	2,1	-2,7	2,0		
14	-2,7	-1,8	-1,9	15				
15								
16	-1,3	0,78	-2,1	7,7	-3,4	0,27		
17	-1,9	-1,2	-2,3	10				
18	-1,5	0,60				0,03		
19	-3,0	-0,69	-2,2	14		2,1		
20	-1,8	-0,76	-1,9	0,55		-1,7		
21	-2,7	-0,55	-3,2	7,9	-3,3	0,47		
22	-2,6	-1,5				3,4		
23	-2,7	-1,0	-2,8	13		0,36		
24	-1,4	0,35			-3,1	0,80		
25	-2,7	-0,89	-3,3	10		0,72		
26	-2,8	-0,56	-1,7	0,82	-2,8	-0,60		
27 / 27a	-1,2	0,49	-3,0	9,9	-3,4	-0,10	-3,4	0,01
27b					-3,9	1,3		
28	-1,8	-0,03			-3,4	-0,62		
29	-2,5	-1,6	-0,91	8,8		21		
30	-3,2	-3,1	-3,4	-1,0		-1,3		

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: Haselnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
AQ	19	21.10.21	positiv	5	negativ	<LOQ	positiv	10	0,3	1	50	Haselnuss	AgraQuant ELISA Hazelnut COKAL0348, RomerLabs
AQ	21	06.10.21	-	6,231	-	<1	-	10,43		1	39,15	Haselnuss	AgraQuant ELISA Hazelnut COKAL0348, RomerLabs
AQ	25	19.10.21	positiv	6,5	negativ	<1	positiv	9,4		1		Haselnuss	AgraQuant ELISA Hazelnut COKAL0348, RomerLabs
BF	13		positiv	6,2	negativ	<1	positiv	17,9		1		Haselnuss	MonoTrace Hazelnut ELISA kit, BioFront Technologies
IL	12	01.10.21	positiv	5,26	negativ		positiv	7,81		1	11	Haselnuss	Immunolab Hazelnut ELISA
IL	23	21.09.21	positiv	6,2	negativ	<1	positiv	9,1		1		Haselnuss	Immunolab Hazelnut ELISA
IL	30		positiv	4,1	negativ	<1	positiv	2,7				Haselnuss	Immunolab Hazelnut ELISA
MI-II	4		positiv	0,94	negativ	<0,16	positiv	0,82	0,16	0,16		Haselnussprotein	Morinaga Hazelnut ELISA Kit II
RS-F	5	07.09.21	-	8,2	-	<2,5	-	10,9	0,19	2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	6	16.09.21	positiv	9,86	negativ	<2,5	positiv	15,08	N/A	2,5		Bitte auswählen!	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	7	06.09.21	positiv	14,4	negativ	<2,5	positiv	13,2	1,5	2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	9	13.09./14.09./27.09.	positiv	12,3	negativ		positiv	12,5	0,19	2,5	50	Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	10	17.09.21	positiv	8,9	negativ	<2,5	negativ	2,5		2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	16	09.09.	positiv	13,45	negativ	<0,2	positiv	14,47	0,2	2,5	20	Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	17	18.10.21	positiv	10,6	negativ		positiv	8,6		2,5	40	Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	18	13.09.21	positiv	12,33	negativ	<2,5	positiv	13,92				Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	20	31/09	positiv	10,9	negativ	<2,5	positiv	9,8	-	2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	24	24.09.21	positiv	12,93	negativ	<2,5	positiv	13,15	0,19	2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	27	13.09.21	positiv	13,72	negativ	<2,5	positiv	13,58	2,5	2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
RS-F	28	01.10.21	positiv	11	negativ	<2,5	positiv	12		2,5		Haselnuss	Ridascreen® FAST Hazelnut R6802, R-Biopharm
SP	1	07.09.21	positiv	9	negativ	0	positiv	11	0,07	1		Haselnuss	Eurofins SensiSpec Hazelnut ELISA Kit
SP	2	09.09.21	positiv	5,2	negativ	<1,0	positiv	12		1		Haselnuss	Eurofins SensiSpec Hazelnut ELISA Kit
VT	14	20.09.21	positiv	6,5	negativ	< 2,50	positiv	6,55	0,85	2,5	45	Haselnuss	Veratox Hazelnut, Neogen
VT	22	06.10.21	positiv	6,8	negativ	<2,5	positiv	7,5	1	2,5		Haselnuss	Veratox Hazelnut, Neogen
VT	26	22.10.21	pos	6	neg	<2,5	pos	10,4		2,5		Haselnuss	Neogen Veratox
VT	29	10.09.21	-	7,6	-	0	-	7,4	1	3	26,6	Haselnuss	Veratox Hazelnut, Neogen

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	19			ja	
AQ	21			ja	
AQ	25				
BF	13			ja	Der Hersteller des ELISA-Kits, der zum Nachweis des Haselnussallergens verwendet wird, gibt eine Kreuzreaktivität zu Walnuss (1,08 %) an.
IL	12			ja	
IL	23			ja	
IL	30				
MI-II	4	erkennt Haselnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	
RS-F	5	polyklonal		ja	
RS-F	6		nach Beilage	ja	Wiederfindung in Probe B = 55 %
RS-F	7			ja	
RS-F	9			ja	
RS-F	10			ja	
RS-F	16	Haselnussproteine	Allergenextraktionspuffer mit Magermilchpulver und Extraktor Ei, 10 min / 60°C	ja	
RS-F	17			ja	
RS-F	18				
RS-F	20		nach Anleitung	ja	
RS-F	24	Haselnussproteine	lt. Testkitbeschreibung	ja	
RS-F	27	lt. Testkitbeschreibung	lt. Testkitbeschreibung	ja	
RS-F	28			ja	
SP	1				
SP	2			ja	
VT	14			ja	
VT	22			nein	
VT	26				
VT	29		PBS/15 min/60C	ja	

5.1.2 ELISA: Walnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		Test-Kit + Anbieter
AQ	7	16.09.21	negativ	<2,0	negativ	<2,0	positiv	26,8	0,35	2		Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	14	16.09.21	positiv	10,59	negativ	< 6,00	positiv	56,2	0,35	6	18	Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	17	18.10.21	positiv	8,5	negativ		positiv	42,4		2	40	Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	19	21.10.21	positiv	9	negativ	<LOQ	positiv	55	0,35	2	50	Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
AQ	25	22.10.21	positiv	3,8	negativ	<2	positiv	41,9		2		Walnuss	AgraQuant ELISA Walnut COKAL0948, RomerLabs
BC	21	19.10.21	-	4,25	-	<2	-	35,67		2	26,28	Walnuss	BioCheck ELISA Walnut-Check
BC	27	13.09.21	positiv	5	negativ	<2	positiv	41,54	2	2		Walnuss	BioCheck ELISA Walnut-Check
BF	10	14.09.21	positiv	9,5	negativ	<2	positiv	5		2		Walnuss	
BF	13		positiv	9,03	negativ	<1	positiv	18,3		1		Walnuss	MonoTrace Walnut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	20	03.10.21	positiv	10,6	negativ	<1,0	positiv	13,6	-	1		Haselnuss	MonoTrace Walnut ELISA kit, BioFront Technologies
BF	26	22.10.21	pos	11,6	neg	<2,0	pos	14,4		2		walnut	BioFront
BK	6	17.09.21	positiv	17,87	negativ	<2,4	positiv	72,54	N/A	2,4		Walnuss	BioKits Walnut Assay Kit, Neogen
BK	29	10.09.21	-	15,8	-	0	-	38,4	2	4	24,9	Walnuss	BioKits Walnut Assay Kit, Neogen
IL	12	14.10.21	positiv	5,68	negativ		positiv	64,44		2		Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
IL	23	21.09.21	positiv	6,1	negativ	<2	positiv	51,8		2		Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
IL	30		positiv	3,2	negativ	<2	positiv	9				Walnuss	Immunolab Walnut ELISA
NL	16	14.09.	positiv	9,6	negativ	<0,6	positiv	35	0,6	2	20	Walnuss	nutriLinia® Walnut-ELISA
SP	1	19.08.22	positiv	9	negativ	0	positiv	>60	0,4	2		Walnuss	Eurofins SensiSpec Walnut ELISA Kit
SP	2	09.09.21	positiv	8,4	negativ	<2,0	positiv	43,1		2		Walnuss	Eurofins SensiSpec Walnut ELISA Kit
SP	4		positiv	7,5	negativ	<2	positiv	35	1	2		Walnuss	Eurofins SensiSpec Walnut ELISA Kit
div	5	08.09.21	-	7,7	-	<2,0	-	38,4	0,35	2		Walnuss	Biosystem

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	7			ja	
AQ	14			ja	
AQ	17			nein	
AQ	19			ja	
AQ	25				
BC	21			ja	
BC	27	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	
BF	10			ja	BIOFRONT MONOTRACE WALNUS (WJ4-EK-96)
BF	13			ja	
BF	20		Nach Anleitung	ja	
BF	26				
BK	6		laut Beilage	ja	Wiederfindung in Probe B < 15%
BK	29		Extraktionspuffer/ 15min/ RT	ja	
IL	12			nein	Probe zw eimal verdünnt
IL	23			ja	
IL	30				
NL	16	Walnussproteine	Allergenextraktionspuffer, / 15 min / 60°C	ja	
SP	1				
SP	2			ja	
SP	4	erkennt Walnussproteine	lt. Herstellerangaben	ja	
div	5	polykonal		ja	

5.1.3 ELISA: Ei

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg					
		Tag/Monat											Test-Kit + Anbieter
AQ-P	19	21.10.21	negativ	<LOQ	negativ	<LOQ	positiv	20	0,5	1	50	gesamt	AgraQuant Plus ELISA Egg COKAL 1848F, RomerLabs
AQ-P	25	18.10.21	negativ	<0,4	negativ	<0,4	positiv	4		0,4		Eiklarproteine, gesamt	AgraQuant Plus ELISA Egg COKAL 1848F, RomerLabs
IL	30		positiv	<0,4	negativ	<0,4	positiv	2,31				Eiklarproteine, gesamt	Immunolab Egg white ELISA
MI-II	2	09.09.21	positiv	1,94	negativ	<0,31	positiv	6,2		0,31		Volleiproteine	Morinaga Egg (Ovalbumin) ELISA Kit II (M2111)
MI-II	4		positiv	1,9	negativ	<0,31	positiv	6	0,31	0,31		Volleiproteine	Morinaga Egg (Ovalbumin) ELISA Kit II (M2111)
MI-II	6	28.09.21	positiv	1,57	negativ	<0,31	positiv	5,11	N/A	0,31		Eiprotein	Morinaga Egg (Ovalbumin) ELISA Kit II (M2111)
MI-II	10	13.09.21	positiv	2,3	negativ	<1	positiv	3,1		1		Eiklarproteine, gesamt	Morinaga Egg (Ovalbumin) ELISA Kit II (M2111)
MI-II	13		positiv	1,8	negativ	<1	positiv	5,06		1		Eiklarproteine, gesamt	Morinaga Egg (Ovalbumin) ELISA Kit II (M2111)
MI-II	26	04.09.21	pos	2,9	neg	<0,31	pos	5,2		0,31		Volleiproteine	Morinaga Elisa Kit II
RS	16	15.09.	positiv	3,11	negativ	<0,13	positiv	13,9	0,13	0,25	20	Volleipulver	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS	21	08.10.21	-	3,48	-	<0,25	-	14,55		0,25	30,22	Volleipulver	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS	24	21.09.21	positiv	4,6	negativ	<0,25	positiv	15,65	0,13	0,25		Volleipulver	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS	27a	13.09.21	positiv	3,05	negativ	<0,25	positiv	12,72	0,25	0,25		Volleipulver	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS	28	06.10.21	positiv	3,3	negativ	<0,5	positiv	11		0,5		Volleipulver	Ridascreen® Egg R6411, R-Biopharm
RS-F	7	02.09.21	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	10	0,1	0,5		Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	8	06.10.21	positiv	0,076	negativ	0,009	positiv	3,24	0,03	0,13		Eiklarproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	9	08.09./14.09./16.09./04.10.	positiv	<0,5	negativ		positiv	10,2	0,1	0,5	50	Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	11	22.09.21	-	<0,5	-	<0,5	-	10,6		0,5		Eiprotein	ELISA R6402 R-BIOPHARM
RS-F	12	06.10.21	negativ		negativ		positiv	10,77		0,5	17	Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	18	14.09.21	negativ	<0,3	negativ	<0,3	positiv	3,41				Eiklarproteine, gesamt	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	20	31/09	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	7,4	-	0,5		Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	23	21.09.21	negativ	<0,5	negativ	<0,5	positiv	14,2		0,5		Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
RS-F	27b	13.09.21	positiv	0,37	negativ	<0,5	positiv	17,31	0,5	0,5		Volleipulver	Ridascreen® FAST Egg Protein R6402, R-Biopharm
VT	22	08.10.21	positiv	<1	negativ	<0,5	positiv	24	0,5	1		Volleipulver	Veratox Egg Allergen, Neogen
VT	29	10.09.21	-	0	-	0	-	21	1	2	28,6	Eiklarproteine, gesamt	Veratox Egg Allergen, Neogen
div	5	08.09.21	-	<0,5	-	<0,5	-	12,7	0,1	0,5		Volleipulver	Auswahl Egg-Kits:

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ-P	19			ja	
AQ-P	25				
IL	30				
MI-II	2			ja	
MI-II	4	erkennt das Eiklarprotein Ovalbumin	lt. Herstellerangaben	ja	
MI-II	6		laut Beilage	ja	Wiederfindung in Probe B = 94 %
MI-II	10			ja	
MI-II	13			ja	
MI-II	26				
RS	16	Ovalbumin/Ovomukoid	Allergenextraktionspuffer mit Additive 1, Magermilchpulver und Extraktor Ei, 10 min / 60°C	ja	
RS	21			ja	
RS	24	Eiklarproteine	lt. Testkitbeschreibung	ja	
RS	27a	Gemäß Kit-Anweisungen	lt. Testkitbeschreibung	ja	Prozessiertes Ei-Kit
RS	28			ja	
RS-F	7			ja	
RS-F	8	spezifisch Eiklarproteine Ovalbumin und Ovomucoid	Extraktionslösung 60°C		
RS-F	9			ja	
RS-F	11			ja	
RS-F	12			ja	
RS-F	18				
RS-F	20		Nach Anleitung	ja	
RS-F	23			ja	
RS-F	27b	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	ja	Ergebnis geschätzt (niedriger als NWG)
VT	22			nein	
VT	29		PBS/15 min/60C	ja	
div	5	polykonal		ja	Probe A positiv unter BG

5.1.4 PCR: Haselnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse		Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat		qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
														Test-Kit + Anbieter
SFA	3			positiv		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	5	07.09.21		positiv		negativ		positiv		0,4			Haselnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	13			positiv		negativ		positiv		0,4			Haselnuss DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
SFA	15			positiv		negativ		positiv		< 0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	27	15.09.21		positiv	3,13	negativ	<1	positiv	12,13	1	1		Haselnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	8	14.09.21		positiv		negativ		positiv		0,4			Haselnuss-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	11	24.09.21		NEGATIV		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	SureFood® ALLERGEN 4plex Peanut / Hazelnut / Walnut + IAC S3402

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	3				
SFA	5			ja	
SFA	13			ja	
SFA	15			ja	
SFA	27	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	nein	
SFA-4p	8		SureFood® PREP Advanced Kit, Protokoll 1		
SFA-4p	11			nein	

5.1.5 PCR: Walnuss

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Ergebnis Dotierungsprobe		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Quantitatives Ergebnis als	Methode
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	%		
												Test-Kit + Anbieter	
SFA	3		positiv		negativ		positiv		0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	5	07.09.21	positiv		negativ		positiv		0,4			Walnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	11	24.09.21	positiv		negativ		positiv		2			Walnuss	SUREFOOD ALLERGEN WALNUT S3607
SFA	15		positiv		negativ		positiv		< 0,4			Bitte auswählen!	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA	27	15.09.21	positiv		negativ		positiv		1	1		Walnuss	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen
SFA-4p	8	14.09.21	negativ		negativ		positiv		0,4			Walnuss-DNA	Sure Food Allergen 4plex, R-Biopharm / Congen
SFA-ID	13		positiv		negativ		positiv		0,4			Walnuss-DNA	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen
div	4		positiv		negativ		positiv		1			Walnuss-DNA	interne Methode
div	16	18.10.	negativ		negativ		positiv		10	100		Walnuss-DNA	Brezna et al. Eur Food Res Technol, 2006: 223, 373-377.

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Target-Sequenz / -DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
SFA	3				
SFA	5			ja	
SFA	11			ja	
SFA	15			ja	
SFA	27	Gemäß Kit-Anweisungen	Gemäß Kit-Anweisungen	nein	
SFA-4p	8		SureFood® PREP Advanced Kit, Protokoll 1		
SFA-ID	13			ja	
div	4		CTAB / Proteinase K / Rnase A / Echtzeit PCR / 45 Zyklen	ja	
div	16	jug R2 7S	CTAB, Prot. K, Chloroform; Reinigung: FFS-Kit/Maxwell (Promega)	ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL05 (2021) Probe A

Gewicht Gesamtprobe	2,80	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	27,1	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,02	57	22,7
2	4,99	67	26,9
3	5,02	58	23,1
4	4,99	71	28,5
5	5,05	74	29,3
6	4,98	63	25,3
7	4,99	69	27,7
8	5,00	72	28,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	66,4	Partikel
Standardabweichung	6,40	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,32	
Wahrscheinlichkeit	74	%
Wiederfindungsrate	98	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	26,5	mg/kg
Standardabweichung	2,56	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,6	%
Horwitz Standardabweichung	9,8	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	98	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAL05 (2021) Dotierungsniveauprobe

Gewicht Gesamtprobe	1,30	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	29,0	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	74	29,4
2	5,01	72	28,7
3	5,00	76	30,4
4	5,00	62	24,8
5	5,00	69	27,6
6	4,98	62	24,9
7	4,98	57	22,9
8	5,02	71	28,3

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	67,9	Partikel
Standardabweichung	6,58	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,47	
Wahrscheinlichkeit	72	%
Wiederfindungsrate	94	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	27,1	mg/kg
Standardabweichung	2,63	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,7	%
Horwitz Standardabweichung	9,7	%
HorRat-Wert	1,0	
Wiederfindungsrate	94	%

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	ptAL05 - 2021
EP-Name	Allergene V: Haselnuss, Walnuss und Ei in Backware
Probenmatrix (Prozessierung)	Proben A + B: Kakaokekse (gebacken, 150°C) / Zutaten: Teffmehl (Zwerghirse), Zucker, Margarine (Sonnenblumenöl, Kokosfett und Zusatzstoffe), Kakaopulver (4,6%), Reisprotein, Salz, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (Haselnuss, Walnuss, Volleipulver; eine der beiden Proben) Dotierungsniveauprobe: Kartoffelpulver, weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 25 g + 1 Dotierungsniveauprobe: 15 g
Lagerungsinformation	Proben A, B + Dotierungsniveauprobe: Raumtemperatur (EP-Zeitraum), gekühlt 2 - 10 °C (Langzeit)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Haselnuss (Haselnussprotein, DNA), Walnuss (Walnussprotein, DNA), Ei (Eiprotein, DNA) Proben A + B: < 500 mg/kg Dotierungsniveauprobe: < 500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweis zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Vorzugsweise wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe A , B und Dotierungsniveauprobe je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	spätestens 22. Oktober 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. Ggf. werden die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern von DLA im Unterauftrag vergeben.

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		SPANIEN
		SPANIEN
		KANADA
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		FRANKREICH
		SPANIEN
		Deutschland
		GROSSBRITANNIEN
		GRIECHENLAND
		SPANIEN
		SCHWEIZ
		SPANIEN
		BELGIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SPANIEN
		KANADA
		GROSSBRITANNIEN
		ITALIEN
		Deutschland
		ÖSTERREICH
		GROSSBRITANNIEN
		Deutschland
		SPANIEN
		ITALIEN
		GROSSBRITANNIEN
		GRIECHENLAND

[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 00.00-169 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Erdnuss in Lebensmitteln mittels real-time PCR (2019) [Foodstuffs, detection and determination of peanut in foods by real-time PCR]
 33. ASU §64 LFGB L 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (Prunus dulcis) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of almond (Prunus dulcis) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 34. ASU §64 LFGB L 18.00-21 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Paranuss (Bertholletia exceisa) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of brazil nut (Bertholletia exceisa) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
 35. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR] and rye (Secale cereale) in boiled sausages by real-time PCR]
 36. Allergen Data Collection - Update (2000): Hen's Egg White (Gallus domesticus), Barkholt V., Besler M., Sampson H.A., Internet Symposium on Food Allergens 2(Suppl.1): 1-29, <http://www.food-allergens.de>
 37. Ei und Eiprodukte, Ternes W., Acker L., Scholtyssek S., Verlag Paul Parey, Berlin 1994
 38. Jones D.B. (1941) Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. US Department of Agriculture-circ. 183. Washington, DC.
 39. Mariotti et al. (2008) Converting nitrogen into protein--beyond 6.25 and Jones' factors. Crit Rev Food Sci Nutr. 48(2):177-84

DLA ptAL05 (2021) - Allergene V

30 von 32 Teilnehmern haben mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Haselnuss, Walnuss und Ei für ELISA- (qualitativ und quantitativ) und PCR-Methoden (Haselnuss und Walnuss, qualitativ). Zusätzlich wurden für jeden Teilnehmer Wiederfindungsraten für die Dotierungsniveauprobe und die dotierte Probe ermittelt. Details zu den einzelnen Parametern inklusive separater Auswertung nach Testkit-Herstellern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

20 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Spanien, Italien, Frankreich, Großbritannien, Griechenland, Schweiz, Belgien, Österreich) und zwei Teilnehmer in Kanada.