



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA ptAUS5 (2021)**

**Crustaceae-Screening:**

**Black Tiger Garnele (*Penaeus monodon*),  
Eismeergarnele (*Pandalus borealis*),  
Taschenkrebs (*Cancer pagurus*) und Scampi  
(*Nephrops norvegicus*)**

**DLA - Proficiency Tests GmbH**  
Hauptstr. 80  
23845 Oering/Germany

[proficiency-testing@dla-lvu.de](mailto:proficiency-testing@dla-lvu.de)    [www.dla-lvu.de](http://www.dla-lvu.de)

Koordinator der LVU:  
Alexandra Scharf MSc.

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b>  Hauptstr. 80, 23845 Oering, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf  Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358  Mob. ++49(0)171-1954375  Fax. ++49(0)4102-9944976  eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA ptAUS5 (2021)
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Alexandra Scharf MSc.
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (2. März 2022)</p> <p>Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen.  Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.</p>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager)  - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i>  Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager)  - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i>  Datum / Date: 2. März 2022</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Proteinbestimmung  As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: protein determination</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben.  Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Stabilität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Qualitative Auswertung.....	7
3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer.....	7
3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben.....	7
4. Ergebnisse.....	8
4.1 Vergleichsuntersuchung Black Tiger Garnele ( <i>Penaeus monodon</i> )... .	9
4.2 Vergleichsuntersuchung Eismeergarnele ( <i>Pandalus borealis</i> )... .	10
4.3 Vergleichsuntersuchung Scampi ( <i>Nephrops norvegicus</i> ).....	11
4.4 Vergleichsuntersuchung Taschenkrebbs ( <i>Cancer pagurus</i> ).....	12
5. Dokumentation.....	13
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	13
5.1.1 DNA-basierte Methoden: Black Tiger Garnele ( <i>Penaeus monodon</i> ).....	13
5.1.2 DNA-basierte Methoden: Eismeergarnele ( <i>Pandalus borealis</i> )... .	14
5.1.3 DNA-basierte Methoden: Scampi ( <i>Nephrops norvegicus</i> ).....	15
5.1.4 DNA-basierte Methoden: Taschenkrebbs ( <i>Cancer pagurus</i> ).....	16
5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	17
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge... .	18
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	19

## 1. Einleitung

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

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

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

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

Es wurden vier unterschiedliche LVU-Proben mit möglichen Gehalten an gefriergetrockneten, tierischen Lebensmitteln von Black Tiger Garnele (*Penaeus monodon*), Eismeergarnele (*Pandalus borealis*), Taschenkrebs (*Cancer pagurus*) und Scampi (*Nephrops norvegicus*) zur qualitativen Bestimmung zur Verfügung gestellt. Die Lyophilisate lagen gemischt mit Maltodextrin mit Gehalten von 17-20% vor.

Die jeweiligen Rohstoffe für die verwendeten Krustentiere waren handelsübliche Krustentiere (ganze Krustentiere bzw. Taschenkrebs-Scheren, roh). Die Krustentiere wurden bei -20°C gelagert. Anschließend wurden sie manuell zerkleinert und für 78 Stunden bei -50°C lyophilisiert. Die Anteile der Wasserverluste wurden entsprechend der Literaturwerte (Nährwerttabellen, Souci, Fachmann, Kraut, 1991) durch Zugabe von Maltodextrin auf 100% ergänzt (s. Tab. 1). Diese Mischungen wurden vermahlen und anschließend gesiebt (mesh 800 µm). Die entsprechenden Krustentierarten in den Proben 1-4 sind Tab. 2 zu entnehmen.

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 15 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben.

Zutaten	Proben 1 - 4
Maltodextrin	80 - 83 %
Krustentieranteile (Trockengewicht)	17 - 20 %

Tabelle 2: Krustentierarten in den Proben 1-4.

Zutaten	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
<b>Scampi</b> ( <i>Nephrops norvegicus</i> ) (Protein 16,9%)	positiv	negativ	negativ	negativ
<b>Eismeergarnele</b> ( <i>Pandalus borealis</i> ) (Protein 16,0%)	negativ	positiv	negativ	negativ
<b>Black Tiger Garnele</b> ( <i>Penaeus monodon</i> ) (Protein 15,7%)	negativ	negativ	positiv	negativ
<b>Taschenkrebs</b> ( <i>Cancer pagurus</i> ) (Protein 14,1%)	negativ	negativ	negativ	positiv

\* Proteingehalte der EP-Proben (inklusive Maltodextrinanteil) gemäß Laboranalyse (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit allgemeinem Faktor F=6,25)

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

### 2.1.1 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 Bedingungen für die Lagerung ist der  $a_w$ -Wert-Bereich von  $0,15 - 0,3$ , in diesem Bereich ist die geringstmögliche Degradationsrate zu erwarten [16].

Die Erfahrungen mit diversen DLA-Referenzmaterialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert  $< 0,5$ ) eine gute Haltbarkeit der Probe und Lagerstabilität gegenüber mikrobiellem Verderb und bezüglich des Gehalts an den EP-Parametern. Die  $a_w$ -Werte der EP-Proben lagen bei etwa  $0,31$  ( $19,6^\circ\text{C}$ ). 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 47. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 4 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 21. Januar 2022.

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

*Es handelt sich um vier unterschiedliche Proben, die jeweils eine der folgenden Krustentier-Arten enthalten: **Black Tiger Garnele (Penaeus monodon)**, **Eismeergarnele (Pandalus borealis)**, **Taschenkrebs (Cancer pagurus)** oder **Scampi (Nephros norvegicus)**. Die Parameter liegen in der Matrix Krustentierprodukt (gefriergetrocknet) vor. Die Ergebnisangabe und Auswertung erfolgt **rein qualitativ (positiv / negativ)**.*

**Hinweis:** Bei Ankunft der Proben sollten diese kühl gelagert werden (2-10°C).

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung. (siehe Dokumentation unter Punkt 5.2 EP-Informationen)

## 2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich auf, an die Teilnehmer versandten Übermittlungsbögen bzw. -dateien. Zur Auswertung kamen die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben für die Analyten.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, 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 10 Teilnehmern haben 9 Teilnehmer Ergebnisse eingereicht. Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse abgegeben.

### 3. Qualitative Auswertung

Verschiedene Protein- und DNA-basierte Methoden zur Bestimmung von Krustentierarten in Lebensmitteln können verschiedene pH-Gradienten, Antikörper- bzw. Ziel-DNA-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Krustentierarten insbesondere bei der Anwendung Protein-basierter Verfahren stark beeinflussen [19].

#### 3.1 Übereinstimmung mit Konsenswerten der Teilnehmer

Die qualitative Bewertung der Protein- und DNA-basierten Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit dem **Konsenswert der Teilnehmer**. Ein Konsenswert wird festgestellt sofern  $\geq 75\%$  positive oder negative Ergebnisse für einen Parameter vorliegen.

Die Bewertung erfolgt in der Form, dass die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl an Proben, für die ein Konsenswert erhalten wurde, angegeben wird. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt.

#### 3.2 Übereinstimmung mit Dotierungen der Proben

Die qualitative Bewertung der Protein- und DNA-basierten Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgte anhand der Übereinstimmung der angegebenen Ergebnisse (positiv oder negativ) mit den **Dotierungen der vier LVU-Proben**.

Hierzu wird die Anzahl übereinstimmender Ergebnisse gefolgt von der Anzahl an Proben angegeben. Dahinter wird in Klammern die Übereinstimmung als Prozentsatz ausgedrückt angegeben.

### 4. Ergebnisse

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

Es wurden keine Protein-basierten Ergebnisse eingereicht, daher erfolgte ausschließlich eine qualitative Auswertung für jeden Parameter für DNA-basierte Methoden, wie PCR und Sequenzierung.

Die Ergebnisse der Teilnehmer und die Bewertung sind tabellarisch folgendermaßen aufgeführt:

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv				
Anzahl negativ				
Prozent positiv				
Prozent negativ				
Konsenswert				
Dotierung				

#### 4.1 Vergleichsuntersuchung Black Tiger Garnele (*Penaeus monodon*)

##### Qualitative Auswertung der DNA-basierten Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
4	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
9	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
1	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
2	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
3	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
5	negativ	negativ	positiv	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	-	-	positiv	-	1/1 (100%)	1/1 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	9	0
Anzahl negativ	8	8	0	8
Prozent positiv	0	0	100	0
Prozent negativ	100	100	0	100
Konsenswert	negativ	negativ	positiv	negativ
Dotierung	negativ	negativ	positiv	negativ

##### Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

NGS = Next-Generation Sequencing

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

##### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 4.2 Vergleichsuntersuchung Eismeergarnele (*Pandalus borealis*)

### Qualitative Auswertung der DNA-basierenden Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
4	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
9	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
1	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
2	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
3	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
5	negativ	positiv	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	-	positiv	-	-	1/1 (100%)	1/1 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	9	0	0
Anzahl negativ	8	0	8	8
Prozent positiv	0	100	0	0
Prozent negativ	100	0	100	100
Konsenswert	negativ	positiv	negativ	negativ
Dotierung	negativ	positiv	negativ	negativ

#### Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

NGS = Next-Generation Sequencing

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

#### Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

### 4.3 Vergleichsuntersuchung Scampi (*Nephrops norvegicus*)

#### Qualitative Auswertung der DNA-basierten Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
7	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
4	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
9	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
1	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
2	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
3	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
5	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	positiv	-	-	-	1/1 (100%)	1/1 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	9	0	0	0
Anzahl negativ	0	8	8	8
Prozent positiv	100	0	0	0
Prozent negativ	0	100	100	100
Konsenswert	positiv	negativ	negativ	negativ
Dotierung	positiv	negativ	negativ	negativ

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

NGS = Next-Generation Sequencing

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

#### 4.4 Vergleichsuntersuchung Taschenkrebs (*Cancer pagurus*)

##### Qualitative Auswertung der DNA-basierten Ergebnisse

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Qualitative Bewertung	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Übereinstimmungen mit Konsenswerten	Übereinstimmungen mit Dotierungen		
6	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	ASU	
4	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
7	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	NGS 3. Generation (Oxford Nanopore)
9	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	NGS	
1	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
2	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
3	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
5	negativ	negativ	negativ	positiv	4/4 (100%)	4/4 (100%)	div	
8	-	-	-	positiv	1/1 (100%)	1/1 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4
Anzahl positiv	0	0	0	9
Anzahl negativ	8	8	8	0
Prozent positiv	0	0	0	100
Prozent negativ	100	100	100	0
Konsenswert	negativ	negativ	negativ	positiv
Dotierung	negativ	negativ	negativ	positiv

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

NGS = Next-Generation Sequencing

div = keine genaue Angabe / andere Methode

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Die Konsenswerte der Ergebnisse stehen in qualitativer Übereinstimmung mit den Dotierungen der Proben.

## 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 DNA-basierte Methoden: Black Tiger Garnele (*Penaeus monodon*)

##### Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	6		negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	rbiopharm
ASU	7	16.12.21	negativ	negativ	positiv	negativ			BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, AppliedBiosystems
NGS	4	23.12.21	negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	NGS
NGS	9		negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	NGS – Hausmethode
div	1	18.01.	negativ	negativ	positiv	negativ	5	DNA	Cytochromoxidase, Literaturmethode
div	2	09.11.21	negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	Hausmethode PCR + Sequenzierung
div	3	07.01.22	negativ	negativ	positiv	negativ		DNA	Hausmethode Sequenzierung
div	5	29.12.21	negativ	negativ	positiv	negativ	3	Kopienzahl	real-time PCR
div	8		-	-	positiv	-			Hausmethode Krustentiersequenzierung

##### Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz/-DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	6	ASU L 12.01-3, Juli 2012	16S rRNA	DNA-Extraktion über rbiopharm Kit SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / Gelelektrophorese / PCR mit 35 Cyclen	
ASU	7	4337450		DNeasy Mericon Food Kit, Qiagen; 16s und COI PCR	Sanger-Sequenzierung; Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB L 12.01-3 Juli 2012 und Geller, J., Meyer, C., Parker, M. und H.Hawk (2013): Redesign of PCR Primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. Molecular Ecology Resources; DOI:10.1111/1755-0998.12138
NGS	4		Animalia Kingdom		
NGS	9				
div	1			CTAB (1 hr, 60°C) und CTAB-Präzipitation+Chloroformextr. +Fällung	
div	2		16S	Maxwell RSC Pure Food GMO and Authentication Kit – Produits de la mer + PCR + sequencing	
div	3	DL8836	spez. Sequenz für Krustentiere	SureFood® Prep Basic	K01
div	5	Hausmethode	16S-rRNA	CTAB-Extraktion, magnetic-bead Clean-Up, real-time PCR	
div	8				

5.1.2 DNA-basierte Methoden: Eismeergernele (*Pandalus borealis*)

## Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	6		negativ	positiv	negativ	negativ		DNA	rbiopharm
ASU	7	16.12.21	negativ	positiv	negativ	negativ			BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, AppliedBiosystems
NGS	4	23.12.21	negativ	positiv	negativ	negativ		DNA	NGS
NGS	9		negativ	positiv	negativ	negativ		DNA	NGS – Hausmethode
div	1	18.01.	negativ	positiv	negativ	negativ	5	DNA	Cytochromoxidase, Literaturmethode
div	2	09.11.21	negativ	positiv	negativ	negativ		DNA	Hausmethode PCR + Sequenzierung
div	3	07.01.22	negativ	positiv	negativ	negativ		DNA	Hausmethode Sequenzierung
div	5	11.01.22	negativ	positiv	negativ	negativ	3,3	Kopienzahl	real-time PCR
div	8		-	positiv	-	-			Hausmethode Krustentiersequenzierung

## Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz/-DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	6	ASU L 12.01-3, Juli 2012	16S rRNA	DNA-Extraktion über rbiopharm Kit SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / Gelelektrophorese / PCR mit 35 Cyclen	
ASU	7	4337450		DNeasy Mericon Food Kit, Qiagen; 16s und COI PCR	Sanger-Sequenzierung; Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB L 12.01-3 Juli 2012 und Geller, J., Meyer, C., Parker, M. und H.Haw k (2013): Redesign of PCR Primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. Molecular Ecology Resources; DOI:10.1111/1755-0998.12139
NGS	4		Animalia Kingdom		
NGS	9				
div	1			CTAB (1 hr, 60°C) und CTAB-Präzipitation+Chloroformextr. +Fällung	
div	2		16S	idem	
div	3	DL8836	spez. Sequenz für Krustentiere	SureFood® Prep Basic	K01
div	5	Hausmethode	16S-rRNA	CTAB-Extraktion, magnetic-bead Clean-Up, real-time PCR	
div	8				

5.1.3 DNA-basierte Methoden: Scampi (Nephrops norvegicus)

## Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	6		positiv	negativ	negativ	negativ		DNA	rbiopharm
ASU	7	16.12.21	positiv	negativ	negativ	negativ			BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit, AppliedBiosystems
NGS	4	23.12.21	positiv	negativ	negativ	negativ		DNA	NGS
NGS	9		positiv	negativ	negativ	negativ		DNA	NGS – Hausmethode
div	1	18.01.	positiv	negativ	negativ	negativ	5	DNA	Cytochromoxidase, Literaturmethode
div	2	09.11.21	positiv	negativ	negativ	negativ		DNA	Home made PCR + sequencing
div	3	07.01.22	positiv	negativ	negativ	negativ		DNA	in-house Methode Sequenzierung
div	5	29.12.21	positiv	negativ	negativ	negativ	2,5	Kopienzahl	real-time PCR
div	8		positiv	-	-	-			Hausmethode Krustentiersequenzierung

## Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz/-DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	6	ASU L 12.01-3, Juli 2012	16S rRNA	DNA-Extraktion über rbiopharm Kit SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / Gelelektrophorese / PCR mit 35 Cyclen	
ASU	7	4337450		DNeasy Mericon Food Kit, Qiagen; 16s und COI PCR	Sanger-Sequenzierung; Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB L 12.01-3 Juli 2012 und Geller, J., Meyer, C., Parker, M. und H.Hawk (2013): Redesign of PCR Primers for mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I for marine invertebrates and application in all-taxa biotic surveys. Molecular Ecology Resources; DOI:10.1111/1755-0998.12139
NGS	4		Animalia Kingdom		
NGS	9				
div	1			CTAB (1 hr, 60°C) und CTAB-Präzipitation+Chloroformextr. +Fällung	
div	2		16S	idem	
div	3	DL8836	spez. Sequenz für Krustentiere	SureFood® Prep Basic	K01
div	5	Hausmethode	16S-rRNA	CTAB-Extraktion, magnetic-bead Clean-Up, real-time PCR	
div	8				

5.1.4 DNA-basierte Methoden: Taschenkrebs (Cancer pagurus)

## Primärdaten

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1	Ergebnis Probe 2	Ergebnis Probe 3	Ergebnis Probe 4	Nachweisgrenze	Nachweisgrenze angegeben als	Methode
			positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	positiv/negativ	%	z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
ASU	6		negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	rbiopharm
NGS	4	23.12.21	negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	NGS
NGS	7	07.01.22	negativ	negativ	negativ	positiv			Ligation Sequencing Kit + Min ION (Oxford Nanopore Technologies)
NGS	9		negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	NGS - In house
div	1	18.01.	negativ	negativ	negativ	positiv	5	DNA	Cytochromoxidase, Literaturmethode
div	2	09.11.21	negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	Hausmethode PCR + Sequenzierung
div	3	07.01.22	negativ	negativ	negativ	positiv		DNA	Hausmethode Sequenzierung
div	5	11.01.22	negativ	negativ	negativ	positiv	2,7	Kopienzahl	real-time PCR
div	8		-	-	-	positiv			Hausmethode Krustentiersequenzierung

## Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methoden-Nr. / Test-Kit Nr.	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Sonstige Hinweise
		Artikel-Nr. / ASU-Nr.	Target-Sequenz/-DNA	z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	
ASU	6	ASU L 12.01-3, Juli 2012	16S rRNA	DNA-Extraktion über rbiopharm Kit SureFood® PREP Basic Art. Nr. S1052 / Gelelektrophorese / PCR mit 35 Cyclen	
NGS	4		Animalia Kingdom		
NGS	7	SQK-LSK109		DNeasy Mericon Food Kit, Qiagen; 16s und COI PCR	NGS 3. Generation (Oxford Nanopore)
NGS	9				
div	1			CTAB (1 hr, 60°C) und CTAB-Präzipitation+Chloroformextr. +Fällung	
div	2		16S	idem	
div	3	DL8836	spez. Sequenz für Krustentiere	SureFood® Prep Basic	K01
div	5	Hausmethode	16S-rRNA	CTAB-Extraktion, magnetic-bead Clean-Up, real-time PCR	
div	8				

**5.2 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)**

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

<b>EP-Nummer</b>	<b>DLA ptAUS5 (2021)</b>
<b>EP-Name</b>	<b>Crustaceae-Screening – 4 Proben qualitativ: Black Tiger Garnele (<i>Penaeus monodon</i>), Eismeergarnele (<i>Pandalus borealis</i>), Taschenkrebs (<i>Cancer pagurus</i>), Scampi (<i>Nephros novvegicus</i>) in Krustentierprodukt (gefriergetrocknet, eine Species pro Probe)</b>
<b>Probenmatrix</b>	Proben 1-4: Krustentierpulver/ Zutaten: gefriergetrocknetes Krustentier, Maltodextrin (der Krustentiergehalt entspricht 100% frischem Krustentier)
<b>Probenzahl und Probenmenge</b>	4 unterschiedliche Proben 1-4: je 15 g
<b>Lagerungsinformation</b>	Proben 1-4: gekühlt 2 - 10 °C
<b>Verwendungszweck</b>	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
<b>Parameter</b>	qualitativ: Black Tiger Garnele ( <i>Penaeus monodon</i> ), Eismeergarnele ( <i>Pandalus borealis</i> ), Taschenkrebs ( <i>Cancer pagurus</i> ), Scampi ( <i>Nephros novvegicus</i> ) Proben 1-4: eine Krustentier-Art pro Probe
<b>Untersuchungsmethoden</b>	Die Analysemethoden sind freigestellt
<b>Hinweis zur Analyse</b>	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.
<b>Ergebnisangabe</b>	Es werden für jede Probe 1 - 4 je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen.
<b>Einheiten</b>	positiv / negativ (Nachweisgrenze in %)
<b>Anzahl von Stellen</b>	mindestens 2 signifikante Stellen
<b>Ergebnisabgabe</b>	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
<b>Letzter Abgabetermin</b>	<b>Spätestens 21. Januar 2022</b>
<b>Auswertebericht</b>	Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.
<b>Koordinator und Ansprechpartner der EP</b>	Alexandra Scharf M.Sc.

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

## 6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		USA
		Deutschland
		Deutschland
		GROSSBRITANIEN
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ
		Deutschland
		PORTUGAL

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

## 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. Lebensmittelchemische Gesellschaft [LChG der GDCh] „Stellungnahme der AG zu: Methoden zur Differenzierung von Tierarten in Lebensmitteln – Status quo, (2016), Food Chemistry Society of the GDCh

**DLA ptAUS5 (2021) - Crustaceae-Screening**

Von 10 Teilnehmern haben 9 mindestens ein DNA-basiertes Ergebnis eingereicht. Die Auswertung der 4 Proben erfolgte rein qualitativ hinsichtlich der Parameter Black Tiger Garnele (*Penaeus monodon*), Eismeergarnele (*Pandalus borealis*), Taschenkrebs (*Cancer pagurus*) und Scampi (*Nephrops norvegicus*). Es wurden jeweils die Übereinstimmungen bezüglich der Konsenswerte der Teilnehmer und bezüglich der Dotierungen der Proben bewertet. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

3 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Großbritannien, Portugal, Schweiz) und ein Teilnehmer in den USA.