



Stand: 27.08.2015

Stellungnahme der AG zu:

Nachweisverfahren für Nahrungsmittelallergene

Lebensmittelallergiker können nach Verzehr bereits geringer Mengen des entsprechenden Lebensmittels mit allergischen Reaktionen reagieren. Dies schließt mitunter schwere, teils lebensbedrohliche Reaktionen mit ein. Daher sind Lebensmittelallergiker darauf angewiesen, entsprechende allergenhaltige Lebensmittel erkennen und vermeiden zu können.

Allergene sind entsprechend der EU-Lebensmittel-Informationsverordnung (LMIV) [1] bei vorverpackter Ware sowie bei loser Abgabe, etwa in Gastronomiebetrieben, zu kennzeichnen. Allerdings werden nach wie vor nicht deklarierte Allergene festgestellt [2].

Nicht selten sind nach den bisherigen Erfahrungen auch herstellungsbedingte Einträge von allergenen Lebensmittelbestandteilen die Ursache. Diese fallen nicht unter die gesetzliche Kennzeichnungspflicht, da es sich nicht um Zutaten handelt. [3].

Um diese unbefriedigende Situation zu verbessern, etabliert beispielsweise die Lebensmittelindustrie im Rahmen des Allergen-Managements interne Aktionswerte für herstellungsbedingte unbeabsichtigte Einträge. Auch Laboratorien der Lebensmittelüberwachung verwenden interne Aktionswerte für die Entscheidung, ob Lebensmittelinspektoren weitere Ermittlungsmaßnahmen im Betrieb ergreifen sollen [2-6].

Für die Überprüfung solcher Aktionswerte sind quantitative Methoden erforderlich, zumindest aber solche, die Allergene bzw. allergene Lebensmittelbestandteile bereits im geringen Spurenbereich qualitativ erfassen können.

Die folgende Stellungnahme gibt einen Überblick über den derzeitigen Stand der Allergenanalytik. Sie soll in erster Linie dazu dienen, im Hinblick auf die Festlegung von Aktions-/Schwellen- oder Grenzwerten die analytischen Möglichkeiten besser einschätzen zu können.

Analytische Methoden zum Nachweis von Nahrungsmittelallergenen

Derzeit werden überwiegend immunologische Verfahren (z.B. ELISA und Streifen-Schnelltests) sowie molekularbiologische Verfahren auf Basis der real-time Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt. Darüber hinaus zeichnen sich vielversprechende Entwicklungen im Bereich der massenspektroskopischen (LC-MS) Verfahren ab [7-13].

Bei den bislang eingesetzten Verfahren handelt es sich überwiegend um Nachweise der Spezies der allergenen Lebensmittelbestandteile (z.B. Erdnuss oder Sellerie), entweder über charakteristische DNA-Sequenzen oder speziestypische Proteine. Dies ist auch im Sinne der Nachweissicherheit sinnvoll. Wird mit einem Speziesnachweis beispielsweise Erdnuss als allergener Bestandteil eines Lebensmittels identifiziert, so ist zunächst von einem Vorhandensein potentiell allergener Erdnussproteine auszugehen. Die Etablierung von Nachweisverfahren, welche die einzelnen allergenen Proteine eines Lebensmittels erfassen, scheint wünschenswert, ist jedoch aus verschiedenen Gründen problematisch. Zum einen sind noch nicht alle allergenen Proteine in Lebensmitteln bekannt, zum anderen können Allergiker auf sehr



Lebensmittelchemische Gesellschaft

Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

unterschiedliche allergene Proteine des gleichen Organismus reagieren. Außerdem können sich lebensmitteltechnologische Prozesse unter Umständen sehr unterschiedlich auf die Nachweisbarkeit einzelner Allergene auswirken.

Es hat sich in der Praxis bewährt, ELISA- und PCR-basierte Verfahren gegenseitig zur Bestätigung von Ergebnissen einzusetzen.

In den Tabellen ist, aufgegliedert nach allergenem Lebensmittelbestandteil, der derzeitige Stand der Analytik zusammengefasst. Die in der Kennzeichnungsregelung mitgenannten Stoffe Sulfid und Laktose werden als Nicht-Allergene hier nicht behandelt.

In Tabelle 1 sind allergene Zutaten genannt, für die Kit-basierte Nachweise von mehreren Anbietern verfügbar sind bzw. für die mehrere publizierte Verfahren vorliegen. Die ungefähre Bandbreite der in den Kits bzw. Veröffentlichungen angegebenen Nachweisgrenzen in Milligramm pro Kilogramm ist ebenfalls angegeben.

Tabelle 2 beschreibt die bisher verfügbaren Standardverfahren. Bei Ringversuchen werden bestätigte Nachweisgrenzen sowie ggf. ermittelte quantitative Daten wie Wiederfindung und Vergleichsstandardabweichung aufgelistet.

Mittlerweile finden regelmäßige Laborvergleichsuntersuchungen im Bereich der Lebensmittelallergene statt [14-16].

ELISA-Verfahren

Derzeit sind zum Nachweis vieler in Anhang II der VO 1169/2011 genannten allergenen Lebensmittelbestandteile kommerzielle ELISA-Kits verfügbar (s. Tabelle 1). Zumeist handelt es sich um Sandwich-ELISAs. Die verwendeten Antikörper sind überwiegend gegen verschiedene, z.T. allergene Proteine des jeweiligen allergenen Lebensmittelbestandteils gerichtet. Die seitens der Anbieter genannten Nachweisgrenzen liegen meist im einstelligen Milligramm pro Kilogramm-Bereich des allergenen Lebensmittelbestandteils. Allerdings ist hierbei darauf zu achten, worauf sich diese Angaben beziehen: den allergenen Lebensmittelbestandteil insgesamt (z. B. Erdnuss), die Trockenmasse (z. B. Erdnusspulver), die Proteinmasse des allergenen Lebensmittels (z. B. Erdnussprotein) oder auf einzelne (allergene oder toxische) Proteine (z. B. Ara h1). Es ist anzumerken, dass die Prozessierung einen Einfluss auf die Nachweisgrenze haben kann.

In Ermangelung von Referenzmaterialien (siehe Absatz Referenzmaterialien) entscheidet jeder Anbieter derzeit selbst, welches Standardmaterial verwendet wird, was mitunter zu abweichenden Ergebnissen je nach Hersteller führt.

Eine regelmäßig aktualisierte Zusammenstellung von Anbietern von ELISA-Kits, teilweise mit detaillierter Auflistung der Produkte, ist auf der Internetseite der Arbeitsgruppe zugänglich.

In § 64 LFGB-Ringversuchen getestet und als Standardmethode beschrieben wurden bisher Verfahren zur Bestimmung von Erdnuss und Haselnuss, jeweils in der Matrix Schokolade. Daneben haben noch international durchgeführte Ringversuche bei Gluten [17-22] sowie Ei und Milch [23] stattgefunden (s. Tabelle 2). Außerdem sind auch einige Organisationen im Bereich der Standardisierung tätig, z.B. Codex Alimentarius, AOAC (AOAC Official Method of Analysis OMA), AOAC leistungsgeprüfte Methode (AOAC Performance tested Method PTM) sowie AACCI (American Association of Cereal Chemists International).

Die ELISA-Verfahren gehören wie die Schnelltests zu den proteinbestimmenden Verfahren. Die Verfahren haben das Potenzial, allergene Proteine direkt zu detektieren. Die entscheidenden Qualitätsfaktoren eines ELISA sind der Antikörper, das Kalibrationsmaterial und die Extraktionsmethode.



Lebensmittelchemische Gesellschaft

Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

Der Antikörper eines ELISA bestimmt maßgeblich durch seine Selektivität dessen Leistungsfähigkeit. Neben der Gefahr von Kreuzreaktivitäten kann auch eine Veränderung der Proteine während der Lebensmittelproduktion ein potentiell Problem während der ELISA-Messung darstellen. Je nach Spezifität des Antikörpers oder Art des Extraktionspuffers können diese Veränderungen (z. B. Denaturierung, Glycosylierung, Fragmentierung) zu einem eingeschränkten Nachweis führen. Spezielle Extraktionspuffer oder kompetitive ELISA Systeme werden in solchen Fällen angeboten. Bei den meisten Herstellern von ELISA sind Validierungsdaten erhältlich, die über die Leistungsfähigkeit des jeweiligen Produktes Auskunft geben. Bislang sind noch keine ELISA kommerziell verfügbar, die mehrere allergene Lebensmittel (z. B. Erdnüsse und Haselnüsse) in einem Test nachweisen können (Multiplex-ELISA). Multiplex-ELISA sind jedoch prinzipiell möglich.

ELISA stellen neben der real-time PCR das Routineverfahren der Allergenanalytik dar und haben sich in vielen Diagnostikbereichen seit Jahrzehnten bewährt. Wesentliche Gründe dafür sind: einfache Anwendung, Quantifizierbarkeit, kostengünstige Geräte und Materialien, Schnelligkeit, die Möglichkeit zum Großdurchsatz, hohe Spezifität und Sensitivität.

Schnelltests

Neben den quantitativen ELISA ergänzen die qualitativen Schnelltests (Lateral Flow Devices (LFD, Dipstick-Tests) die Analytik von allergenen Lebensmittelbestandteilen. Sie dienen dem schnellen und einfachen Nachweis von Allergenen und im Idealfall werden für die Durchführung keine zusätzlichen technischen Geräte benötigt, so dass die Durchführung ortsunabhängig ist. Aus diesem Grund werden die Tests insbesondere in der Lebensmittelindustrie beispielsweise im Rahmen des Allergenmanagements (HACCP) in Lebensmittelbetrieben eingesetzt. Die Teststreifen können im gesamten Produktionsprozess, von der Kontrolle der Rohwaren bis zur Endkontrolle der Produkte sowie prozessbegleitender Hygienemaßnahmen, verwendet werden.

Die Teststreifen können für den Nachweis in Lebensmitteln genutzt werden, haben sich bisher aber vorwiegend in der Analyse von Oberflächenwischtests oder bei der Untersuchung von Reinigungswässern etabliert.

Inzwischen sind solche Schnelltests für die meisten der kennzeichnungspflichtigen allergenen Bestandteile verfügbar (s. auch Tabelle 1). Auch hier wird auf die Internetseite der Arbeitsgruppe und die entsprechende Zusammenstellung von Anbietern und Details zu einzelnen Tests verwiesen.

Die angegebenen Nachweisgrenzen liegen im unteren Milligramm pro Kilogramm-Bereich und unterscheiden sich nicht wesentlich von denen aktueller ELISA-Kits. Das bedeutet, dass bereits geringste Spuren allergener Lebensmittelbestandteile nachgewiesen werden können.

Die Teststreifen sind nicht zur Konzentrationsbestimmung oder Messung großer Allergenmengen entwickelt worden, sondern zum Spuren- bzw. Kontaminationsnachweis. Auch hier ist wie beim ELISA darauf zu achten, ob das Ergebnis in allergenem Lebensmittelbestandteil oder z.B. allergenem Protein angegeben ist und weiterhin, ob die Nachweisgrenze für Lebensmittel oder die Oberflächenwischprozedur gilt. Auch im Teststreifen-System ist der Antikörper für die Qualität (also Spezifität und Sensitivität) des Tests ausschlaggebend. Wie bei anderen Verfahren ist im Rahmen der Validierung zu prüfen, ob eine Eignung für prozessierte Lebensmittel besteht oder bestimmte Substanzen die Wiederfindung stören können.

Lateral Flow Teststreifen werden in Streifen- oder Kassetten-Formaten angeboten. Zubehörsets, um Oberflächenproben zu sammeln, werden ergänzend angeboten. Die Durchführungszeit einer Analyse



Lebensmittelchemische Gesellschaft

Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

beträgt, je nach Kit und Analyt, zwischen 5 min und 30 min. Quantitative Aussagen sind derzeit allerdings noch nicht möglich.

PCR-Verfahren

Für alle zu kennzeichnenden allergenen Lebensmittelbestandteile sind Nachweisverfahren auf Basis der real-time PCR verfügbar. Allerdings ist der PCR-Nachweis für Ei und Milch weniger geeignet: die Sensitivität von DNA-basierten Nachweisen der Spezies Huhn und Rind reicht für die Allergenanalytik nicht aus, zudem lässt sich anhand des Nachweises von DNA aus Huhn bzw. Rind nicht unterscheiden, ob die Quelle der DNA Eier oder Milch oder stattdessen Hühner- oder Rindfleisch war. In den letzten Jahren wurden weitere PCR-basierte Verfahren wie die MLPA zum Nachweis von Fischen, Kopffüßern und Krustentieren [24] und erste isothermale Nachweisverfahren (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) zum Screening auf die allergenen Spezies Sellerie, Senf und Fisch (Kabeljau) veröffentlicht [25,26].

Auch gibt es für eine Reihe von Spezies standardisierte Nachweisverfahren; die Nachweisgrenzen in der untersuchten Matrix betragen jeweils ca. 10 Milligramm pro Kilogramm. Für Soja, Gelbsef, Mandel, Sesam, Lupine und Paranuss wurden in der Matrix Brühwurst quantitative Daten erhalten, die zeigen, dass eine Quantifizierung mittels real-time PCR prinzipiell möglich ist [27-29]. Dies ließ sich auch für die Quantifizierung von Soja mittels Standardaddition bestätigen [30].

Aus Laborvergleichsuntersuchungen sind bislang noch keine Daten verfügbar, die eine Anwendbarkeit von PCR-Verfahren für die Quantifizierung belegen würden. Es ist davon auszugehen, dass mit der einheitlichen Verwendung von Standards für die Kalibrierung (wie dies etwa bei Anwendung identischer Kits durch viele Labore im Falle von ELISA bereits der Fall ist) sowie bei weiterer Verbreitung der Kombination von Standardaddition und real-time PCR zukünftig vermehrt auch hier quantitative Daten verfügbar sein werden.

LC-MS/MS-Analytik

In den vergangenen Jahren wurde eine Reihe von Anwendungen der LC-MS/MS Technik zum Nachweis von allergenen Lebensmittelbestandteilen veröffentlicht (s. z.B. [7-13]). Bei diesem vielversprechenden Ansatz werden speziesspezifische, i.d.R. auch Allergen-spezifische Peptidfragmente durch Enzymverdau der jeweiligen Proteine freigesetzt und mittels LC-MS/MS-Technik aufgetrennt und detektiert.

Die Eignung der Methode zum qualitativen, gleichzeitigen Nachweis mehrerer Allergene konnte gezeigt werden [8]. Ein Vergleich mit kommerziellen ELISA-Methoden zeigte Vorteile der LC-MS/MS insbesondere bei prozessierten Produkten welche die Allergene Ei, Milch und Soja enthielten [9].

Für einen eindeutigen, hochspezifischen Nachweis werden mehrere Peptide eines allergenen Organismus detektiert (i.d.R. 2-4) [10]. Dadurch können auch falsch-negative Ergebnisse reduziert werden, die durch Degradierung einzelner Zielsequenzen zustande kommen können. Bislang wurde die prinzipielle Eignung zur Quantifizierung bei Milchprodukten aufgezeigt [11].

Die Nachweisgrenze der LC-MS/MS deckt sich nach derzeitigen Erkenntnissen in Rohmaterialien mit der von typischen ELISA oder PCR- Verfahren.

Derzeit ist die LC-MS/MS-basierte Allergen-Analytik nur in wenigen Laboratorien verfügbar - auch weil sie teure Geräte und sehr fachkundiges Personal benötigt. Weiterhin stehen noch nicht für alle Allergene geeignete Peptide zur Verfügung.



Lebensmittelchemische Gesellschaft

Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

Es ist jedoch zu erwarten, dass in naher Zukunft diese Analytik weitere Verbreitung findet und auch Ergebnisse von Ringversuchen und Laborvergleichsuntersuchungen zur Verfügung stehen werden.

Referenzmaterialien

Bislang sind keine zertifizierten Referenzmaterialien für die Allergenanalytik verfügbar. Einige kommerzielle Anbieter vertreiben Materialien auf Basis unterschiedlicher Matrices, die mit diversen Allergenen dotiert sind. Im Rahmen von Forschungsprojekten wurden des Weiteren Materialien hergestellt, die beispielsweise in Ringversuchen zur Validierung von Methoden oder in Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) eingesetzt wurden [28, 31]. Materialien aus früheren LVU sind allgemein verfügbar und auch analytisch gut charakterisiert. Unter dieser Voraussetzung bieten sie sich daher derzeit für die laborinterne Methodenvalidierung und Qualitätssicherung an.

Auf internationaler Ebene sind derzeit die Aktivitäten des Netzwerkes MoniQA (MoniQA Food Allergen Reference Material Task Force) zu nennen. Dort wurden erste Materialien (Null-Matrices sowie Dotierungsmaterialien) charakterisiert [32]. Neben grundlegenden Eigenschaften wie Homogenität sind Informationen über die Herstellungsweise wertvoll, etwa ob es sich um gespicktes oder natürlich kontaminiertes Material handelt; welche Art von Material zum Spiken benutzt wurde, ob und wenn ja welche Prozessierung vorgenommen wurde (z. B. Brot mit bekannter Zusammensetzung, das vor dem Backen mit entfettetem Mandelpulver versetzt und anschließend bei 160°C für 30 min gebacken wurde).

Zusammenfassung und Ausblick

Für alle kennzeichnungspflichtigen Allergene sind routinetaugliche Nachweisverfahren verfügbar. Die Ergebnisse von Ringversuchen zeigen, dass ein Nachweis ab 10 Milligramm des allergenen Lebensmittelbestandteils sowohl mit ELISA als auch PCR Verfahren prinzipiell möglich ist. Diese Verfahren sowie die LC-MS/MS Technik haben das Potential, je nach Matrix auch niedrigere Konzentrationen nachzuweisen. Dies muss jedoch anhand geeigneter Standardmaterialien im Rahmen von Ringversuchen oder Laborvergleichsuntersuchungen belegt werden.

Nach wie vor ist die Verfügbarkeit von Referenzmaterialien stark eingeschränkt, es stehen allenfalls Materialien aus früheren Laborvergleichsuntersuchungen kommerzieller Anbieter zur Verfügung. Erfahrungen aus aktuellen Forschungsvorhaben haben gezeigt, dass die Verfügbarkeit von Referenzmaterialien die Methodenstandardisierung entscheidend erleichtert und verbessert. Die Methodenstandardisierung selbst erleichtert wiederum die Vergleichbarkeit und Bewertung der unterschiedlichen analytischen Ansätze zum Nachweis allergener Lebensmittelbestandteile.



Tabelle 1: Übersicht zum Stand der Allergenanalytik

allergenes Lebensmittel (s. Anhang II der VO 1169/2011)	ELISA		Schnelltests (lateral flow)		real-time PCR				LC/MS		
	Kits verfüg- bar?	LOD (mg/kg) ^{a,b}	Kits verfüg- bar?	LOD ^a (mg/kg)	Kits verfüg- bar? ql /qn	LOD/LOQ (mg/kg) ^a	Publikatio- nen?	LOD (mg/kg)	Publikation en?	LOD (mg/kg)	
Glutenhaltiges Getreide	ja	3 ^{#1}	ja	2,5-5	ja/ja	0,4 / 1	ja	2,5 -1000	ja		
Krebstiere	ja	1	ja	k.a.	ja/nein	0,4	ja	500	ja		
Eier	ja	1 ^{#2}	ja	1-5	nein*	-	ja	n.v.	ja	2	
Fische	ja	5 ^{#3}	nein		ja/nein	0,4	ja	n.v.			
Erdnüsse	ja	2	ja	2-5	ja/ja	1 / 4	ja	0,1 - 10	ja	2	
Sojabohnen	ja	2	ja	1	ja/ja	0,4 / 1	ja	2 - 50	ja	1	
Milch	ja	1 ^{#4}	ja	1-5	nein*	-	ja	n.v.	ja	2	
Schalen- früchte	Mandeln	ja	1,7	ja	1-2	ja/nein	4 / 11	ja	1 - 50	ja	2
	Haselnüsse	ja	1,5	ja	2-5	ja/ja	0,4 / 1	ja	0,1 - 100	ja	1
	Walnüsse	ja	2	ja	5-10	ja/ja	0,4 / 1	ja	10 - 100	ja	3
	Cashew	nein	2	ja	1-5	ja/nein	0,4	ja	2 - 100	-	
	Pekannuss	nein	-	nein	-	ja/nein	4	ja	100 - 1000	ja	
	Paranuss	nein	-	ja	1-5	ja/nein	0,4	ja	0,6 - 1000	-	
	Pistazie	nein	1	ja	1-5	ja/ja	0,4 / 1	ja	0,1 - 100	-	
Macadamia	ja	-	ja	1-2	ja/nein	0,4	ja	200	-		
Sellerie	nein	-	nein	-	ja/ja	0,4 / 1	ja	5 - 10	ja		
Senf	ja	<1 ^{#5}	ja	1-2	ja/nein	0,4	ja	5 - 50	ja		
Sesam	ja	<2	ja	1-5	ja/ja	0,4 / 1	ja	50 - 500	ja		
Lupine	ja	<1 ^{#6}	ja	10	ja/ja	0,4 / 2,6	ja	0,1 - 1000	ja		
Weichtiere	nein	-	ja	10	ja/nein	0,4	nein	-	ja		

Legende:

. LOD = Nachweisgrenzen laut Anbieter / Publikation. ql = qualitativ, qn = quantitativ

*keine ausreichend sensitive Analytik möglich.

^a nach Herstellerangaben

^b Beispielhafte Bezugsgrößen: #1 Glutenprotein; #2 Volleipulver; #3 Bezugsgröße unbekannt; #4 Milchprotein; #5 Senfpulver; #6 Lupinenprotein. Die ELISA LOD-Angaben beziehen sich auf den Durchschnitt der kommerziellen Kits, einzelne Produkte können davon abweichen. Je nach Hersteller können auch die Bezugsgrößen unterschiedlich sein (gesamtes Lebensmittel, Trockenmasse, Proteingehalt, allergenes Protein). Angaben, die sich nicht auf das gesamte Lebensmittel beziehen sind mit # gekennzeichnet.

Tabelle 2: Übersicht zum Stand der Allergenanalytik; Standardisierung

Legende: ql = qualitative Auswertung, qn = quantitative Auswertung, § 64 = Methode in Amtlicher Sammlung von Untersuchungsverfahren.

allergenes Lebensmittel (s. Anhang II der VO 1169/2011)	Standardisierung/Ringversuche				
	Durchgeführt von / Methode / Matrix	ql: LOD (mg/kg)	qn: Wiederfindungen (%)	qn: RSD _R (%)	
Glutenhaltiges Getreide	WG PAT [14,15] / R5 Sandwich ELISA / Brot, Teig, Stärke, Mehl	nicht ermittelt	84-109 [14] 79-103 [15]	26-52 [14] 23-47 [15]	
	AACCI [19] / R5 Teststreifen / Mehl, Keks, Snack	2-3 (als Gluten)			
	AACCI/WG PAT [20] / R5 Sandwich ELISA / Brot, Mehl, Snack		83-91	8,5-48,5	
	AACCI / WG PAT [21] / R5 competitive ELISA / Bier, Sirup, Sauerteig		69-119	19,5-157	
	AACCI / WG PAT [22] / G12 Sandwich ELISA / Reismehl, -kuchen, -brot	4,3 (als Gluten)	62-135	19-34 (im Bereich > 10 mg/kg)	
Eier	ELISA [22]				
Fische	-				
Erdnüsse	§64 / ELISA / Schokolade	10	57 - 108	45 -97 ⁴	
	§ 64 / PCR / Schokolade	10	-	-	
Milch	ELISA [22]	-	-	-	
Sojabohnen	§ 64 [26] / PCR / Brühwurst	10	82-93	24-30	
Schalenfrüchte	Mandeln	§64 [28] / PCR single (s) und multiplex (m)/ Reiskekse, Saucenpulver	10 (s) 10 (m)	88-105 (s) 94-121 (m)	28-43 (s) 31-44 (m)
		Haselnüsse	§64 /ELISA / Schokolade (als Protein)	2	75-106
	§ 64/PCR / Schokolade		10	-	-
	Walnüsse	-			
	Cashew	-			
	Pecanuss	-			
	Paranuss	§64 / PCR single und multiplex Reiskekse, Saucenpulver	10 (s) 20 (m)	43-98 (s) 48-97 (s)	34-42 (s) 36-57 (m)
	Pistazie	-			
Macadamia	-				
Sellerie	§64 / PCR/Brühwurst	10-20	n.b.	n.b.	
Senf	§ 64/PCR/Brühwurst	10	80 - 93	26 - 31	
Sesam	§64/PCR single und multiplex/ Reiskekse, Saucenpulver	10 (s) 10 (m)	60-98 (s) 59-98 (m)	28-43 (s) 31-44 (m)	
Lupine	§64/PCR/Brühwurst	10		-	
	§64/PCR/ Reiskekse, Saucenpulver	10 (m)	54-102	23-48	
Weichtiere	-				



Lebensmittelchemische Gesellschaft

Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

Literatur

1. Verordnung (EU) Nr. 1169/2011. Amtsblatt L 304 (22/11/2011). Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union, Brüssel. S. 18.
2. Jahresbericht der Lebensmittelüberwachung in Baden-Württemberg 2014. www.ua.bw.de
3. Waiblinger HU. Überwachung der Allergenkennzeichnung, in: Allergene in Lebensmitteln. Loseblattausgabe. Hrsg. Busch, Waiblinger, Meyer, Worm. Behr's Verlag. Stand 06/2015
4. Demmel A, Busch U, Waiblinger HU. Existierende Aktionswerte, in: Allergene in Lebensmitteln. Loseblattausgabe. Hrsg. Busch, Waiblinger, Meyer, Worm. Behr's Verlag. Stand 06/2015
5. The Allergen Bureau. <http://www.allergenbureau.net/>
6. Arbeitskreis der auf dem Gebiet der Lebensmittelhygiene und der Lebensmittel tierischer Herkunft tätigen Sachverständigen (ALTS) sowie Arbeitskreis Lebensmittelchemischer Sachverständiger der Länder und des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (ALS): Rechtliche Bewertung der Analysenbefunde – Aktualisierung der internen Beurteilungswerte. [Beschlüsse der 74. Arbeitstagung des ALTS am 09. bis 10. Dezember 2014 www.bvl.bund.de](http://www.bvl.bund.de).
7. Pöpping B und Godefroy (2011) Allergen Detection by Mass Spectrometry-The New Way Forward. Journal of AOAC International 94 (4).
8. Heick J, Fischer M, Pöpping B (2011) First screening method for the simultaneous detection of seven allergens by liquid chromatography mass spectrometry. J Chromatogr A. 1218 (7):938-43.
9. Heick J, Fischer M, Kerbach S, Tamm U und Pöpping B (2011) Application of a Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Detection of Seven Allergenic Foods in Flour and Bread and Comparison of the Method with Commercially Available ELISA Test Kits, J AOAC 94 (2).
10. Johnson P, Baumgartner S, Aldick T, Bessant C, Giosafatto V, Heick J, Mamone G, O'Connor G, Poms R, Pöpping B, Reuter A, Ulberth F, Watson A, Monaci L, Mills C (2011) Current Perspectives and Recommendations for the Development of Mass Spectrometry Methods for the Determination of Allergens in Foods. Journal of AOAC 94 (4), 1-7.
11. Lutter P, Parisod V und Weymuth H (2011) Development and Validation of a Method for the Quantification of Milk Proteins in Food Products Based on Liquid Chromatography with Mass Spectrometric Detection. Journal of AOAC 94 (4)
12. Lepski S, Gerwin J, Brockmeyer J (2013) Detection of nut allergens by mass spectrometry and structure analysis after food processing. Clin Transl Allergy 3 (Suppl 3), 56.
13. Koeberl M, Clarke D, Lopata AL (2014) Next Generation of Food Allergen Quantification Using Mass Spectrometric Systems. J. Proteome Res. 13 (8), 3499–3509
14. Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR, Großhansdorf, D. <http://www.dla-lvu.de/>
15. Lvu GbR, Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen. Herbolzheim, D. <http://www.lvus.de/html/home.htm>
16. FAPAS. The Food and Environment Research Agency. YORK (UK). <http://www.fapas.com/proficiency-testing-schemes/fapas/>
17. Immer U und Haas-Lauterbach S (2012): Gliadin as a Measure of Gluten in Foods Containing Wheat, Rye, and Barley-Enzyme Immunoassay Method Based on a Specific Monoclonal Antibody to the Potentially Celiac Toxic Amino Acid Prolamin Sequences: Collaborative Study; Journal of AOAC International Vol. 95, No. 4, 1118-1124
18. Mendez E, Vela C, Immer U und Janssen FW (2012) Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. European Journal of Gastroenterology & Hepatology Vol. 17 (10), 1053-1063.
19. Scherf et al. (Publikation in Vorbereitung)
20. Köhler P et al (2013) Cereal Foods World. 58 (1) 36-40
21. Köhler P et al (2013) Cereal Foods World 58 (3) 154-158
22. Don C, Halbmayr-Jech L, Rogers A, Koehler P (2014) ACCI Approved Methods Technical Committee Report: Collaborative Study on the Immunochemical Quantitation of Intact Gluten in Rice Flour and Rice-Based Products Using G12 Sandwich ELISA. Cereal Foods World 59 187-193
23. Johnson P et al (2014) Food Chemistry 148, 30-36



Lebensmittelchemische Gesellschaft
Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker
Arbeitsgruppe Biochemische und Molekularbiologische
Analytik

24. Unterberger C, Luber F, Demmel A, Grünwald K, Huber I, Engel K-H, Busch U (2014) Simultaneous detection of allergenic fish, cephalopods and shellfish in food by multiplex ligation-dependent probe amplification. *European Food Research and Technology*, 239:559-566
25. Zahradnik C, Martzy R, Mach RL, Krska R, Farnleitner AH, Brunner K (2014) Detection of the food allergen celery via loop-mediated isothermal amplification technique. *Anal Bioanal Chem* 406:6827-6833
26. Focke F, Haase I, Fischer M (2013) Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): Methods for Plant Species Identification in Food. *J. Agric. Food Chem.* 61:2943–2949; Saull J, Duggan C, Hobbs G, Edwards T (2016) The detection of Atlantic cod (*Gadus morhua*) using loop mediated isothermal amplification in conjunction with a simplified DNA extraction process. *Food Control* 59:306e313).
27. Siegel M, Schnur K, Boernsen B, Pietsch K, Waiblinger HU (2012) First ring-trial validation of real-time PCR methods for the quantification of allergenic food ingredients. *Eur Food Res Technol* 235:619-630
28. Siegel M, Mutschler A, Börsen B, Pietsch K und Waiblinger H-U (2013) Food matrix standards for the quantification of allergenic food ingredients using real-time PCR. *European Food Research and Technology* 237(2) 185-197
29. Waiblinger HU, Boernsen B, Näumann G, Koepfel R (2014) Ring trial validation of single and multiplex real-time PCR methods for the detection and quantification of the allergenic food ingredients sesame, almond, lupine and Brazil nut. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 9 (3), 297-310
30. Demmel A, persönliche Mitteilung im Rahmen der AG
31. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. Verbundprojekt "Entwicklung einer Schnell-Nachweissystems auf Basis der real-time PCR zur quantitativen Allergenüberwachung in der gesamten Lebensmittelproduktionskette". http://www.fisaonline.de/index.php?lang=dt&act=projects&view=details&p_id=2431
32. MoniQA, Monitoring and Quality Assurance in the Food Supply Chain. <https://www.moniga.org/>