

Gerätevergleich Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount.

Auswertung der Untersuchungen August und September 2006.

[Comparison of the analytical instruments Bactoscan 8000, Bactoscan FC and Bactocount.

Analysis of the results for August and September 2006]

Autoren

Georges Bühlmann, Walter Schaeren, Thomas Berger,
Jörg Hummerjohann

Impressum

Herausgeber:	Agroscope Institut für Lebensmittelwissenschaften ILM Schwarzenburgstr. 161 3003 Bern Telefon +41 (0)58 463 84 18 Fax +41 (0)58 463 84 18 bestellung@agroscope.admin.ch , www.agroscope.ch
Redaktion	Müge Yildirim-Mutlu, Agroscope
Layout	Walter Schaeren, Agroscope
Fotos	Agroscope
Titelbild	Walter Schaeren, Agroscope
Copyright	Nachdruck, auch auszugsweise, bei Quellenangabe und Zustellung eines Belegexemplars an die Herausgeberin gestattet.
Auskünfte:	Walter Schaeren walter.schaeren@agroscope.admin.ch
ISSN	2296-729X (online)
ISBN	978-3-906804-13-2

1 Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	5
2	Summary	6
3	Einleitung	7
4	Konzept, Material	7
5	Gerätevergleich mit den Testmilchproben	9
5.1	Eigenschaften der Testmilchproben	9
5.2	Keimbelastung und koloniebildende Einheiten der Testmilchproben.....	9
5.3	Zusammenhänge zwischen den Analysenergebnissen der verschiedenen Methoden	12
5.4	Wiederholbarkeit der Methoden.....	13
6	Ergebnisse der Untersuchungen von Lieferantenmilchproben	14
6.1	Eigenschaften der Lieferantenmilchproben	14
6.2	Vergleich der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC und Bactocount	15
7	Zusammenfassung der Ergebnisse des Vergleiches der drei apparativen Methode für die Testmilch- und Lieferantenmilchproben	17
7.1	Umrechnungen und Vorgabewerte.....	18
7.2	Gegenüberstellung aller Analysenergebnisse	19
8	Bemerkungen, Folgerungen	21
9	Dokumente, Adressen, Links	22
10	Dank	23
11	Anhang	24
11.1	Tabellen.....	24
11.2	Abbildungen.....	24
Tabelle 4A:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit PCM vs. Bactoscan 8000 der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	25
Tabelle 4B:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit PCM vs. Bactoscan FC der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	26
Tabelle 4C:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Agargussmethode vs. Bactocount der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	27
Tabelle 11A:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC vs. Bactocount der Lieferantenmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)	28
Tabelle 13A:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	29
Tabelle 13B:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan 8000 vs. Bactocount, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	30
Tabelle 13C:	Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC vs. Bactocount, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL).....	31
Abbildung 1:	Häufigkeitsverteilung der logarithmierten Werte gemessen mit Bactoscan FC (IBC/mL), Bactocount (IBCB/mL), Bactoscan 8000 (Imp/mL) und Agargussmethode (KbE/mL).....	32
Abbildung 2:	Vergleich der Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan FC (log(IBC)/mL), Bactocount (log(IBCB)/mL), Bactoscan 8000 (log(imp)/mL) und Agargussmethode (KbE/mL) (Regressionsgeraden und 90% Ellipsen).....	33
Abbildung 3:	Vergleich der logarithmierten Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC und Bactocount (Regressionsgeraden und 95% Konfidenzintervalle).....	34

Abbildung 4: Quotienten der mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount gemessenen Keimzahlen in Abhängigkeit der Zeitdifferenzen zwischen den Messungen (sec)	35
Abbildung 5: Scatterplot der instrumentell (Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount) bestimmten Keimzahlwerte vs. KbE in Abhängigkeit davon, ob Proben vorbebrütet oder nicht.....	36
Abbildung 6: Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount mit denjenigen der Agargussmethode (logarithmierte Werte)	37
Abbildung 7a: Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung: Agargussmethode und Bactoscan 8000	38
Abbildung 7b: Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung: Bactoscan FC und Bactocount.....	39
Abbildung 8: Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan FC und Bactocount aller Proben (logarithmierte Werte)	40

2 Zusammenfassung

Zwischen August und September 2006 wurden insgesamt 510 Lieferantenmilchproben mit verschiedenen Methoden zur Keimzahlbestimmung untersucht. 100 Lieferantenmilchproben (= Testmilchproben) wurden mit zwei Bactoscan 8000 Geräten, dem neuen Bactoscan FC Gerät und einem Bactocountgerät, das im August 2006 im QK-Labor des MIBD Bern (heute Suisselab) in Zollikofen installiert war, gemessen. Parallel dazu wurden die Keimzahlen der Proben (aerob-mesophile Keime) bei Agroscope mit der Referenzmethode (Agargussmethode) bestimmt ([SLMB, 2004, äquivalent ISO 4833](#)). Vorgängig zu diesen Messungen wurden die Proben gesplittet und jeweils die eine Hälfte der Proben während 6 Stunden bei 25°C inkubiert.

Im gleichen Zeitraum wurde eine Serie von 410 Lieferantenmilchproben aus der Routinepraxis mit den beiden Geräten Bactocount und Bactoscan FC im QK-Labor des MIBD Bern in Zollikofen gemessen.

Die Vergleiche mit der Referenzmethode ergaben für die Quotienten "imp/KbE", "IBC/KbE" und "IBCB/KbE" die Medianwerte von 2.81, 3.60 und 3.43. Für alle drei Gerätetypen lagen gute Korrelationsparameter vor:

log(KbE/mL) ¹	= 0.969 * log(imp/mL)	- 0.305	Multiple R: 0.891	n= 395
log(KbE/mL)	= 0.953 * log(IBC/mL)	- 0.327	Multiple R: 0.919	n= 400
log(KbE/mL)	= 0.954 * log(IBCB/mL)	- 0.254	Multiple R: 0.908	n= 160

Gemäss diesen Formeln entsprachen die 2006 in der Schweiz gültigen Beanstandungsgrenzen zur Abstufung der Qualitätsklassen (200'000 bzw. 1 Mio. imp/mL) 67'873 bzw. 322'849 KbE/mL. Der in der EU gültige Grenzwert von 100'000 KbE entsprach 298'343 imp/mL, 388'791 IBC/mL oder 321'615 IBCB/mL. Die Beanstandungsgrenze von 200'000 imp/mL war also deutlich strenger als die 100'000 KbE/mL. Auch die heute (2015) gültige Beanstandungsgrenze von 80'000 Keime pro mL (entspricht 307'627 IBC/mL) ist strenger als der EU Grenzwert von 100'000 KbE/mL.

Die [Medianwert](#) der Quotienten "IBC/imp", "IBCB/imp" und IBC/IBCB betragen 1.39, 1.41 und 1.19. Die die entsprechenden linearen Korrelationen waren gut:

log(imp/mL)	= 0.930 * log(IBC/mL)	+ 0.232	Multiple R: 0.970	n=435
log(imp/mL)	= 0.879 * log(IBCB/mL)	+ 0.535	Multiple R: 0.965	n= 200
log(IBC/mL)	= 0.968 * log(IBCB/mL)	+ 0.232	Multiple R: 0.977	n= 606

Die Untersuchungen liessen den Schluss zu, dass neben dem Bactoscan 8000 sowohl der Bactoscan FC wie auch der Bactocount als Routinegeräte zur Messung der Keimbelastung der Rohmilch in der Schweiz gut geeignet sind.

¹ KbE/mL: Keimzahlen Agargussmethode (koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

imp/mL: Keimzahlen Bactoscan 8000 (Impulse pro Milliliter)

IBC/mL: Keimzahlen Bactoscan FC (Impulse pro Milliliter)

IBCB/mL: Keimzahlen Bactocount (Impulse pro Milliliter)

3 Summary

Between August and September 2006 a total of 510 supplier's milk samples were tested with different methods for the enumeration of total bacterial counts. 100 supplier's milk samples (= test samples) were measured with two Bactoscans 8000, the new Bactoscan FC and a Bactocount, which was installed during August, 2006 at the QK laboratory of MIBD Berne (today Suisselab) in Zollikofen. The bacterial counts (aerobic mesophile germs) of the test samples were determined in parallel at Agroscope according to the reference method (pour plate method) ([SLMB, 2004; equivalent to ISO 4833](#)).

Previous to the measurements the test samples were split and one half of the test samples was incubated for 6 hours at 25°C. During the same period, a series of 410 supplier's milk samples from the routine practice was measured with both instruments, Bactocount and Bactoscan FC, at the QK laboratory of MIBD Berne in Zollikofen.

The comparison of the instrument based measurement results with those of the reference method resulted in median values for the ratios "imp/cfu", "IBC/cfu" and "ICB/cfu" of 2.81, 3.60 und 3.43, respectively. For all three instruments, the correlation parameters were good:

$\log(\text{KbE/mL})^2$	= 0.969 * $\log(\text{imp/mL})$	- 0.305	multiple R: 0.891	n= 395
$\log(\text{KbE/mL})$	= 0.953 * $\log(\text{IBC/mL})$	- 0.327	multiple R: 0.919	n= 400
$\log(\text{KbE/mL})$	= 0.954 * $\log(\text{ICB/mL})$	- 0.254	multiple R: 0.908	n= 160

According to these equations, the non-compliance limit values valid in 2006 in Switzerland for quality grading (200'000 and 1 million imp/mL) corresponded to 67'873 and 322'849 KbE/mL. The limit value of 100'000 cfu/mL valid in the EU corresponded to 298'343 imp/mL, 388'791 IBC/mL and 321'615 ICB/mL, respectively. Thus, the limit of 200'000 imp/mL was considerably more severe than the 100'000 cfu/mL. The currently (2015) valid non-compliance value in Switzerland of 80'000 germs per mL, corresponding to 307'627 IBC/mL, is still lower than the limit of 100'000 cfu/mL (plate count at 30 °C).

The median values of the ratios "IBC/imp", "ICB/imp" and "ICB/BCB" were 1.39, 1.41 and 1.19. The corresponding linear correlations were good:

$\log(\text{imp/mL})$	= 0.930 * $\log(\text{IBC/mL})$	+ 0.232	multiple R: 0.970	n=435
$\log(\text{imp/mL})$	= 0.879 * $\log(\text{ICB/mL})$	+ 0.535	multiple R: 0.965	n= 200
$\log(\text{IBC/mL})$	= 0.968 * $\log(\text{ICB/mL})$	+ 0.232	multiple R: 0.977	n= 606

The studies showed, that both instruments, Bactocount and Bactoscan FC, are suitable for the routine measurement of bacterial counts in untreated Swiss milk samples.

² KbE/mL: Bacterial counts pour plate technique (colony forming units per milliliter)

imp/mL: Bacterial counts Bactoscan 8000 (impulses per milliliter)

IBC/mL: Bacterial counts Bactoscan FC (impulses per milliliter)

ICB/mL: Bacterial counts Bactocount (impulses per milliliter)

4 Einleitung

Der "Bactocount IBC" von Bentley (Chaska, Minnesota) ist ein Routinegerät zur Bestimmung der Keimbelastung von Rohmilch. Es handelt sich um ein leistungsfähiges Gerät für Grosslabors, das wie der Bactoscan FC von Foss (Hillerød, Dänemark) nach dem Prinzip der Durchflusszytometrie funktioniert. Auf Anregung der Cremo SA in Fribourg wurde ein solches Gerät in die Untersuchungen zur Validierung des Bactoscan FC 150, dem Nachfolgegerät der bisher verwendeten Bactoscangeräte der 8000-er Generation, mit einbezogen.

Ab August 2006 war ein Bactocount im Qualitätskontrolllabor des MIBD Bern in Zollikofen eingerichtet, sodass die Vergleichsversuche entsprechend erweitert werden konnten.

Das Hauptziel der Untersuchungen war es, die Vergleichbarkeit des Bactoscan FC und des Bactocount mit der Referenzmethode beziehungsweise dem bisherigen Routinegerät Bactoscan 8000 zu prüfen. Dies insbesondere, weil die offiziellen Qualitätslimite für Rohmilch in Geräteeinheiten, das heisst in Bactoscan 8000 Messeinheiten ("Impulsen"), festgelegt sind.

Dazu war es erforderlich, das Messverhalten der verschiedenen Gerätetypen mit Schweizer Rohmilchproben eingehend zu untersuchen und zu vergleichen. Ausserdem musste nach [ISO 21187:2004](#) ein Vergleich zwischen den neuen Routinegeräten ("indirekte" Methode) mit der Referenzmethode ("direkte" Methode, d.h. Plattenverfahren für aerob-mesophile Keime nach [SLMB, 2004, äquivalent ISO 4833](#)) durchgeführt werden.

Im Unterschied zu den meisten Ländern dürfen in der Schweiz die Rohmilchproben zur Qualitätsbestimmung nicht chemisch konserviert werden. Die bakteriologische Qualität wird ausschliesslich durch das Einhalten der Kühlkette gewährleistet. Dies bedeutet eine Erweiterung der Palette der möglichen Kontaminationsursachen: auch Faktoren von Lagerung und Transport beeinflussen die Keimbelastung. Die warme Jahreszeit ist diesbezüglich besonders kritisch und deshalb war es ideal, dass der Gerätevergleich im Monat August durchgeführt werden konnte.

Im vorliegenden Bericht werden die Resultate der Paralleluntersuchungen mit den drei Gerätetypen Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount vom August und September 2006 zusammengefasst und interpretiert.

5 Konzept, Material

Es wurde nach dem Versuchsprogramm 'Einführung Bactoscan FC in der Schweiz und Teilvalidierung des Bactocount' (Berger, 2006-06-12) gearbeitet, wonach jede Woche eine grössere Zahl von Lieferantenmilchproben parallel mit verschiedenen Methoden untersucht wurde.

Jede Woche wurden 40 Milchproben ('Testmilchproben') mit den drei Gerätetypen für die Routineuntersuchungen (Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount) und dem Referenzverfahren für die Keimzahlbestimmung untersucht. Die Proben werden jeweils am Vortag von Inspektoren des MIBD Bern gesammelt und bei Agroscope vorbereitet. Die Proben wurden gesplittet und die eine Hälfte der Milchproben ununterbrochen bei 4°C kühl gelagert, die andere Hälfte wurde, in Abänderung zum Versuchsprogramm, kontrolliert während 6 Stunden bei Raumtemperatur (25°C) inkubiert und anschliessend wieder auf 4°C gekühlt und bei dieser Temperatur gelagert. Am nächsten Morgen wurden

alle Proben wieder gesplittet und in zwei Röhrchen zur Untersuchung abgeliefert. An Agroscope Liebefeld wurden die Keimzahlen gemäss dem Referenzverfahren für aerob-mesophile Keime ([SLMB, 2004, äquivalent ISO 4833](#)) bestimmt. In Zollikofen wurden die Proben wie normale Rohmilchproben der Routineanalytik mit den beiden Bactoscan Geräten und dem Bactocount Gerät innerhalb möglichst kurzer Zeitintervalle gemessen³. Um eine eventuelle Zunahme der Keimzahl während des Messintervalls zu erkennen, wurden die Systemzeiten der Messung mit dem Bactoscan 8000, dem Bactoscan FC und dem Bactocount registriert.

Die Ergebnisse der Testmilchproben ermöglichten die Berechnung der von ISO vorgesehenen Konversion von Geräteeinheiten zu den Ergebnissen der Referenzmethode ([ISO 21187:2004](#)). Ausserdem liessen sich damit weitere Einflussfaktoren, insbesondere der Effekt der konsequenten Kühlung, demonstrieren.

Zusätzlich wurden pro Woche rund 100 Proben aus verschiedenen Regionen des Einzugsgebiets von Crème Fribourge mit dem Bactocount und dem Bactoscan FC gemessen. Die Geräte waren in Serie geschaltet und es wurden auch alle weiteren Parameter registriert und in die Auswertung miteinbezogen (Fett, Protein, Laktose, Gefrierpunkt).

Auf diese Weise wurde ein Datenpool mit Ergebnissen der Untersuchungen von mehr als 850 Rohmilchproben aufgebaut, der aussagekräftig war für die geprüften Regionen, Betriebstypen und Produktionssysteme des Einzugsgebiets in den Monaten August und September, die erfahrungsgemäss die schwierigsten bakteriologischen Rahmenbedingungen stellen.

Die statistischen Auswertungen wurden mit Systat Version 13, Systat Software Inc., San Jose, USA, durchgeführt.

Für sämtliche statistischen Berechnungen wurden die Keimzahlwerte vorgängig logarithmiert. Auf einen Ausschluss von Outlierwerten wurde verzichtet.

³ *Einzelheiten zu den Einstellungen der verschiedenen Geräte waren nicht verfügbar*

6 Gerätevergleich mit den Testmilchproben

6.1 Eigenschaften der Testmilchproben

Die Resultate der Gehaltsmessungen sind in [Tabelle 1](#) zusammengefasst und zeigen, dass es sich um weitgehend „normale“ Milch für die Monate August und September handelte.

Tabelle 1:

Eigenschaften der Testmilchproben

	FETT (g/100 g)	PROTEIN (g/100 g)	LACTOSE (g/100 g)	G'Punkt (°C)	SCC (Zellen/mL)
N of Cases	440	440	440	440	440
Minimum	3.07	2.86	4.40	0.511	14
Maximum	5.64	3.67	4.91	0.542	942
Median	3.90	3.20	4.68	0.525	124
Arithmetic Mean	3.975	3.200	4.686	0.525	181.4
Standard Error Arithmetic Mean	0.017	0.007	0.004	0.000	7.28
95.0% LCL of Arithmetic Mean	3.942	3.187	4.677	0.524	167.1
95.0% UCL of Arithmetic Mean	4.009	3.214	4.694	0.525	195.7
Geometric Mean	3.960	3.197	4.685	0.525	135.3
Variance	0.127	0.020	0.008	0.000	23'321
Coefficient of Variation	0.090	0.045	0.019	0.010	0.842
Method = CLEVELAND					
5%	3.47	2.98	4.56	0.516	44
25%	3.73	3.10	4.63	0.521	77
75%	4.19	3.29	4.75	0.528	245
95%	4.54	3.46	4.84	0.534	472

6.2 Keimbelastung und koloniebildende Einheiten der Testmilchproben

Die Keimbelastung wurde mit der Referenzmethode und den drei apparativen Verfahren ermittelt ([Tabelle 2](#)). Wie aus der Tabelle hervorgeht, entsprechen die mit den verschiedenen Methoden gefundenen Werte nicht einer Normalverteilung. Um eine besser Annäherung der Verteilung der Werte an eine Normalverteilung zu erhalten, wurden sämtliche statistischen Berechnungen mit den logarithmierten Werten durchgeführt ([Abbildung 1](#)).

Die Resultate der Referenzmethode sind in [Tabelle 3](#) zusammen mit den dazugehörigen "Quotienten", also den Relationen zu den Zähleinheiten der drei Routinegräten, aufgelistet. Ausserdem werden die Zeitdifferenzen der Zählung mit Bactoscan FC respektive Bactocount nach der Messung mit Bactoscan 8000 zusammengestellt.

Tabelle 2:

Keimbelastung der Testmilchproben: Vergleich der Messwerte mit der Referenzmethode und den drei Geräten

	KbE/mL	imp/mL	IBC/mL	IBCB/mL	Quotient imp/KbE	Quotient IBC/KbE	Quotient IBCB/KbE	△ Zeit IBC_imp (sec)	△ Zeit imp_IBCB (sec)	△ Zeit IBCB_IBC (sec)
N of Cases	400	435	440	200	395	400	160	335	100	100
Minimum	840	1'000	4'000	1'000	0.035	0.055	0.060	-617	939	757
Maximum	76'000'000	23'976'000	56'911'000	20'166'000	47.938	61.2	58.231	690	1'608	1'061
Median	14'000	43'000	48'000	66'561	2.81	3.60	3.43	153	1'199	832
Arithmetic Mean	966'887	643'138	1'234'048	1'444'101	4.46	5.17	4.83	152	1'214	877
Standard Error of Arithmetic Mean	331'895	114'777	251'837	248'105	0.267	0.314	0.453	14.39	16.02	9.72
95.0% LCL of Arithmetic Mean	314'405	417'551	739'091	954'849	3.94	4.55	3.93	123.3	1'183	857.7
95.0% UCL of Arithmetic Mean	1'619'369	868'725	1'729'005	1'933'351	4.99	5.78	5.72	180	1'246	896
Geometric Mean	24'094	62'533	81'027	126'642	2.84	3.61	3.12	.	1'204	872
Variance	4.406*10 ¹³	5.731*10 ¹²	2.791*10 ¹³	1.231*10 ¹³	28.09	39.44	32.77	69'336	25'655	9'449
Coefficient of Variation	6.865	3.722	4.281	2.430	1.188	1.215	1.186	1.737	0.132	0.111
Method = CLEVELAND										
5%	1'600	6'000	8'000	7'000	0.577	0.958	0.483	-271	976	758
25%	6'100	13'000	17'500	18'184	1.56	2.21	2.09	-27.75	1'091	819
75%	63'000	216'500	265'500	783'500	5.55	6.34	6.21	344.75	1'320	973
95%	2'550'000	3'640'500	5'928'500	7'926'500	13.31	12.42	12.43	563.75	1'509.5	1'059

KbE/mL: Keimzahlen Agargussmethode (koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

imp/mL: Keimzahlen Bactoscan 8000 (Impulse pro Milliliter)

IBC/mL: Keimzahlen Bactoscan FC (Impulse pro Milliliter)

IBCB/mL: Keimzahlen Bactocount (Impulse pro Milliliter)

Tabelle 3:

Keimbelastung der Testmilchproben: Vergleich der Messwerte mit der Referenzmethode und den drei Geräten (logarithmierte Werte)

	log(KbE/mL)	log(imp/mL)	log(IBC/mL)	log(BCB/mL)	Quotient log(KbE) / log(imp)	Quotient log(KbE) / log(IBC)	Quotient log(KbE) / log(BCB)
N of Cases	400	435	440	200	395	400	160
Minimum	2.924	3	3.602	3	0.698	0.637	0.690
Maximum	7.881	7.380	7.755	7.305	1.379	1.312	1.351
Median	4.146	4.633	4.681	4.823	0.905	0.884	0.895
Arithmetic Mean	4.382	4.796	4.909	5.103	0.906	0.886	0.906
Standard Error of Arithmetic Mean	0.047	0.041	0.042	0.072	0.004	0.004	0.008
95.0% LCL of Arithmetic Mean	4.29	4.716	4.826	4.96	0.897	0.879	0.891
95.0% UCL of Arithmetic Mean	4.474	4.876	4.991	5.245	0.914	0.893	0.921
Geometric Mean	4.293	4.726	4.836	5.004	0.901	0.883	0.901
Variance	0.881	0.722	0.78	1.04	0.008	0.006	0.009
Coefficient of Variation	0.214	0.177	0.18	0.2	0.098	0.084	0.105
Method = CLEVELAND							
5%	3.204	3.778	3.903	3.845	0.768	0.770	0.774
25%	3.785	4.114	4.243	4.26	0.845	0.840	0.855
75%	4.799	5.335	5.424	5.894	0.959	0.928	0.949
95%	6.406	6.561	6.773	6.899	1.054	1.011	1.068

log(KbE/mL): Keimzahlen Agargussmethode log(koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

log(imp/mL): Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)

log(IBC/mL): Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

log(BCB/mL): Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

6.3 Zusammenhänge zwischen den Analysenergebnissen der verschiedenen Methoden

In [Tabelle 4](#), der [Abbildung 2](#) und der [Abbildung 3](#) sind die Ergebnisse der Regressionsanalysen zwischen den instrumentell ermittelten Werten (log(Impulse/mL)) und den Keimzahlbestimmungen (log(KbE/mL)) mit der Agargussmethode (Referenzmethode) dargestellt.

Tabelle 4: Regressionsgleichungen der Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen mit den vier Methoden Agarguss (KbE/mL), Bactoscan 8000 (imp/mL), Bactoscan FC (IBC/mL) und Bactocount (IBCB/mL) der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Agargussmethode - Bactoscan 8000

N: 395; Multiple R: 0.891; Squared Multiple R: 0.794

Adjusted Squared Multiple R: 0.793; Standard Error of Estimate: 0.429

$$\log(\text{KbE/mL}) = 0.969 * \log(\text{imp/mL}) - 0.305 \quad \text{Multiple R: 0.891}$$

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.305	0.122	0.000	.	-2.493	0.013
log(imp/mL)	0.969	0.025	0.891	1.000	38.889	0.000

Agargussmethode - Bactoscan FC

N: 400; Multiple R: 0.919; Squared Multiple R: 0.845

Adjusted Squared Multiple R: 0.845; Standard Error of Estimate: 0.370

$$\log(\text{KbE/mL}) = 0.953 * \log(\text{IBC/mL}) - 0.327 \quad \text{Multiple R: 0.919}$$

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.327	0.103	0.000	.	-3.182	0.002
log(IBC/mL)	0.953	0.020	0.919	1.000	46.587	0.000

Agargussmethode - Bactocount

N: 160; Multiple R: 0.908; Squared Multiple R: 0.825

Adjusted Squared Multiple R: 0.824; Standard Error of Estimate: 0.461

$$\log(\text{KbE/mL}) = 0.954 * \log(\text{IBCB/mL}) - 0.254 \quad \text{Multiple R: 0.908}$$

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.254	0.187	0.000	.	-1.354	0.178
log(IBCB/mL)	0.954	0.035	0.908	1.000	27.301	0.000

Die Möglichkeit, dass im Zeitintervall zwischen den Messungen mit dem Bactoscan 8000 und dem Bactocount respektive dem Bactoscan FC eine messbare Keimvermehrung stattgefunden hatte, wurde getestet, indem die Quotienten IBC/imp und IBCB/imp in Relation zur jeweiligen Zeitdifferenz gesetzt wurden

([Abbildung 4](#)). Bei beiden Geräten war offensichtlich keine zeitabhängige allgemeine Zunahme des Quotienten feststellbar. Deshalb wurde darauf verzichtet, einen Korrekturfaktor einzuführen.

[Abbildung 5](#) und [Abbildung 6](#) zeigen die Punktwolken der einzelnen paarweisen Messwerte. In [Abbildung 6](#) wurde zusätzlich mit Farbcodes markiert, ob die Testmilchproben konsequent gekühlt oder während sechs Stunden bei 25 °C inkubiert worden waren. Es wird deutlich, dass die nicht-inkubierten Milchproben nur ein enges Fenster von Zählwerten und damit eine schwache Grundlage für lineare Regressionen liefern.

6.4 Wiederholbarkeit der Methoden

Nach Versuchsplan wurde jede Testmilch, ob gekühlt oder inkubiert, jeweils in zwei Röhrchen zur Untersuchung abgeliefert. Diese echten Doppelproben erlauben die Berechnung von Standardabweichungen und Variationskoeffizienten, die einen Gesamteindruck der Wiederholbarkeit (Repeatability) der Messmethoden zulassen.

In der [Tabelle 5](#) sind die Kennzahlen des Vergleichs der Doppelbestimmungen der vier Methoden zusammengefasst. In [Abbildung 7a](#) und [Abbildung 7b](#) sind die Werte der wiederholten Untersuchungen für die vier Methoden dargestellt. Bemerkenswert ist, dass die schlechteste Wiederholbarkeit, sowohl bei den Differenzen einzelner Doppelbestimmungen als auch bei der Anzahl von Doppelbestimmungen mit deutlichen Abweichungen, bei den Untersuchungen mit der Referenzmethode festzustellen war. Die eher schlechte Wiederholbarkeit der Messungen mit Bactocount, v.a. bei den Proben mit tiefen Keimzahlen, dürfte zu einem grossen Teil auf die fehlende Routine beim Einsatz dieses Gerätes zurückzuführen sein.

Tabelle 5:

Vergleich der Repetierbarkeit der Keimzahlbestimmungen der Testmilchpaare mit den verschiedenen Methoden (logarithmierte Werte/mL)

Hypothesis Testing: Paired t-test

	N	Mean	sd of Difference	t	p-Value
log(KbE/mL) ¹	200	4.377	0.509	0.282	0.778
log(KbE/mL) ²	200	4.387			
log(imp/mL) ¹	220	4.787	0.461	0.512	0.609
log(imp/mL) ²	220	4.803			
log(IBC/mL) ¹	220	4.917	0.391	0.428	0.669
log(IBC/mL) ²	220	4.906			
log(IBC/mL) ¹	100	5.067	0.391	0.428	0.014
log(IBC/mL) ²	100	5.138			

Hypothesis Testing: Paired t-test: H0: Mean Difference = 0 vs. H1: Mean Difference <> 0

7 Ergebnisse der Untersuchungen von Lieferantenmilchproben

7.1 Eigenschaften der Lieferantenmilchproben

Zwischen dem 15. August und dem 7. September 2006 wurde die Keimbelastung von 410 Lieferantenmilchproben aus der Routinepraxis nacheinander mit den beiden Geräten Bactoscan FC und Bactocount gemessen. Ausserdem wurden auch die anderen routinemässig erfassten Eigenschaften aufgezeichnet. [Tabelle 6](#) fasst die Resultate Zellzahl, Gefrierpunkt, Fett, Eiweiss und Laktose zusammen, [Tabelle 7](#) die Keimbelastung.

Tabelle 6:

Eigenschaften der Lieferantenmilchproben

	FETT g/100g	PROTEIN g/100g	LACTOSE g/100g	G'punkt °C	SCC Zellen/mL
N of Cases	410	410	410	410	410
Minimum	3.36	2.65	4.10	0.435	15
Maximum	5.37	3.60	4.89	0.538	668
Median	4.07	3.28	4.68	0.526	146.5
Arithmetic Mean	4.09	3.28	4.68	0.525	162.2
Standard Error of Arithmetic Mean	0.012	0.007	0.004	0.000	4.674
95% LCL of Arithmetic Mean	4.06	3.27	4.68	0.525	153.0
95% UCL of Arithmetic Mean	4.11	3.29	4.69	0.526	171.4
Geometric Mean	4.08	3.28	4.68	0.525	138.7
Variance	0.057	0.018	0.008	0.000	8'958
Coefficient of Variation	0.058	0.041	0.019	0.013	0.584
Method = CLEVELAND					
5%	3.72	3.06	4.54	0.518	52
25%	3.95	3.20	4.62	0.524	97
75%	4.22	3.37	4.73	0.529	199
95%	4.50	3.49	4.82	0.531	373

Tabelle 7:

Keimbelastung der Lieferantenmilchproben (n = 406)

	log(IBC/mL)	log(IGCB/mL)	Quotient log(IBC/mL)/ log(IGCB/mL)	Zeitdiff IGCB vs IBC (sec)
N of Cases	406	410	406	410
Minimum	3.477	3.602	0.059	763
Maximum	7.690	7.203	4.500	1'153
Median	4.415	4.362	1.250	931
Arithmetic Mean	4.741	4.648	1.328	951
Standard Error of Arithmetic Mean	0.041	0.041	0.024	6.49
95% LCL of Arithmetic Mean	4.660	4.568	1.280	938
95% UCL of Arithmetic Mean	4.823	4.729	1.375	963
Geometric Mean	4.678	4.584	1.245	942
Variance	0.697	0.683	0.236	17'258
Coefficient of Variation	0.176	0.178	0.366	0.138
Method = CLEVELAND				
5%	4.000	3.778	0.816	769
25%	4.204	4.114	1.053	913
75%	4.863	4.863	1.500	1'126
95%	6.864	6.697	2.148	1'149

log(IBC/mL): Keimzahlen Bactoscan FC, log(Impulse pro Milliliter)

log(IGCB/mL): Keimzahlen Bactocount, log(Impulse pro Milliliter)

7.2 Vergleich der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC und Bactocount

Die Zählwerte von Bactoscan FC sind in der Regel höher als diejenigen von Bactocount. [Tabelle 8](#) zeigt die Auswertung der Wertepaare. Die Differenzen sind eindeutig grösser als Null und damit hoch signifikant positiv.

Tabelle 8:

Statistik der Zählwerte Bactoscan FC vs. Bactocount der Lieferantenmilchproben

Mean log(IBC/mL)	4.741
Mean log(IGCB/mL)	4.646
Mean Difference	0.095
95.00% Confidence Interval	
Lower Limit	0.079
Upper Limit	0.111
Standard Deviation of Difference	0.165
T	11.610
Df	405
p-Value	0.000

Die Regressionsanalyse zeigt eine hoch signifikante lineare Abhängigkeit, obwohl auch hier das Fenster der Zählwerte der gekühlt gelagerten Milchproben sehr eng ist, was zu einer eher unsicheren, schmal abgestuften, Regressionslinie führt ([Tabelle 9](#)).

Table 9:

Regressionsanalyse der Keimzahlmessungen der Lieferantenmilchproben mit Bactoscan FC und Bactocount (logarithmierte Werte pro mL)

Bactoscan FC - Bactocount

N: 406; Multiple R: 0.980; Squared Multiple R: 0.961

Adjusted Squared Multiple R: 0.961; Standard Error of Estimate: 0.165

$\log(\text{IBC}/\text{mL}) = 0.986 * \log(\text{IBCB}/\text{mL}) + 0.159$	Multiple R: 0.980
--	-------------------

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.15	0.04	0.00		3.40	0.00
log(IBCB/mL)	0.98	0.01	0.98	1.00	99.70	0.00

Die Regressionslinie ist in [Abbildung 8](#) dargestellt. Der Regression ist nicht perfekt linear: Im oberen bzw. unteren Bereich liegen die Bactoscan FC Werte unterhalb der Regressionsgeraden.

8 Zusammenfassung der Ergebnisse des Vergleiches der drei apparativen Methode für die Testmilch- und Lieferantenmilchproben

Die Gegenüberstellungen der Ergebnisse der drei apparativen Keimzählmethoden sind in den [Tabelle 10](#) sowie in der [Abbildung 3](#) zusammengefasst. Die daraus hervorgehenden Regressionsgleichungen in [Tabelle 11](#) und [Tabelle 12](#).

Tabelle 10:

Regressionsanalysen der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount (logarithmierte Werte pro mL), alle Milchproben

Bactoscan 8000 - Bactoscan FC

N: 435; Multiple R: 0.970; Squared Multiple R: 0.942

Adjusted Squared Multiple R: 0.42; Standard Error of Estimate: 0.205

$$\log(\text{imp/mL}) = 0.930 * \log(\text{IBC/mL}) + 0.232$$

Multiple R: 0.970

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.232	0.055	0.000	.	4.186	0.000
log(IBC/mL)	0.930	0.011	0.970	1.000	83.590	0.000

Bactoscan 8000 und Bactocount

N: 200; Multiple R: 0.965; Squared Multiple R: 0.931

Adjusted Squared Multiple R: 0.930; Standard Error of Estimate: 0.245

$$\log(\text{imp/mL}) = 0.879 * \log(\text{IBCB/mL}) + 0.535$$

Multiple R: 0.965

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.535	0.089	0.000	.	6.031	0.000
log(IBCB/mL)	0.879	0.017	0.965	1.000	51.600	0.000

Bactoscan FC - Bactocount

N: 606; Multiple R: 0.977; Squared Multiple R: 0.955

Adjusted Squared Multiple R: 0.955; Standard Error of Estimate: 0.193

$$\log(\text{IBC/mL}) = 0.968 * \log(\text{IBCB/mL}) + 0.232$$

Multiple R: 0.977

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.232	0.042	0.000	.	5.566	0.000
log(IBCB/mL)	0.968	0.009	0.977	1.000	113.430	0.000

8.1 Umrechnungen und Vorgabewerte

Die Ergebnisse der Regressionsanalysen der Referenzmethode verglichen mit den drei gerätebasierten Methoden führen zu den sechs in [Tabelle 11](#) zusammengestellten Gleichungen. In der [Tabelle 12](#) sind die Regressionsgleichungen zwischen den verschiedenen, instrumentell ermittelten Keimzahlwerten aufgeführt.

Tabelle 11:

Regressionsgleichungen zur Umrechnung der Keimzahlwerte bestimmt mit der Agargussmethode bzw. mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount

$\log(\text{KbE}/\text{mL})$	$= 0.969 * \log(\text{imp}/\text{mL})$	$- 0.305$	$n= 395$
$\log(\text{KbE}/\text{mL})$	$= 0.953 * \log(\text{IBC}/\text{mL})$	$- 0.327$	$n= 400$
$\log(\text{KbE}/\text{mL})$	$= 0.954 * \log(\text{ICB}/\text{mL})$	$- 0.254$	$n= 160$
$\log(\text{imp}/\text{mL})$	$= (\log(\text{KbE}/\text{mL}) + 0.305) / 0.969$		$n= 395$
$\log(\text{IBC}/\text{mL})$	$= (\log(\text{KbE}/\text{mL}) + 0.327) / 0.953$		$n= 400$
$\log(\text{ICB}/\text{mL})$	$= (\log(\text{KbE}/\text{mL}) + 0.254) / 0.954$		$n= 160$

Tabelle 12: Regressionsgleichungen der gerätebasierten Routinemethoden aller Milchproben (logarithmierte Zählwerte pro mL)

$\log(\text{imp}/\text{mL})$	$= 0.930 * \log(\text{IBC}/\text{mL})$	$+ 0.232$	$n= 435$
$\log(\text{imp}/\text{mL})$	$= 0.879 * \log(\text{ICB}/\text{mL})$	$+ 0.535$	$n= 200$
$\log(\text{IBC}/\text{mL})$	$= 0.968 * \log(\text{ICB}/\text{mL})$	$+ 0.232$	$n= 606$
$\log(\text{IBC}/\text{mL})$	$= (\log(\text{imp}/\text{mL}) - 0.232) / 0.930$		$n= 435$
$\log(\text{ICB}/\text{mL})$	$= (\log(\text{imp}/\text{mL}) - 0.535) / 0.879$		$n= 200$
$\log(\text{ICB}/\text{mL})$	$= (\log(\text{IBC}/\text{mL}) - 0.232) / 0.968$		$n= 606$

Die Möglichkeit, dass im Zeitintervall zwischen der Messung mit dem Bactoscan 8000 und dem Bactocount respektive dem Bactoscan FC eine messbare Keimvermehrung stattfand wurde getestet, indem die Quotienten IBC/imp und ICB/imp in Relation zur jeweiligen Zeitdifferenz gesetzt wurden ([Abbildung 4](#)). Bei beiden Geräten war offensichtlich keine zeitabhängige allgemeine Zunahme des Quotienten feststellbar. Es wurde darauf verzichtet, einen Korrekturfaktor einzuführen.

Mit den Regressionsgleichungen in der [Tabelle 11](#) und der [Tabelle 12](#) lassen sich die Werte in der [Tabelle 13](#) berechnen. Es zeigt sich, dass die in der Schweiz 2006 gültige Qualitätslimite vom 200'000 imp/mL deutlich unter der EU-Bearstandungsgrenze von 100'000 KbE/mL liegt.

Tabelle 13:

Kreuztabelle der definierten und berechneten kritischen Toleranzwerte (Zählwerte pro Milliliter)

Agarguss (KbE/mL)	Bactoscan 8000 (imp/mL)	Bactoscan FC (IBC/mL)	Bactocount (IBCB/mL)	Bemerkungen
10'000	27'716	34'706	28'782	
34'674	100'000			
27'416		100'000		
32'810			100'000	
50'000	145'900	187'863	155'522	
67'873	200'000			CH, QK Stufe 1
53'074		200'000		
63'560			200'000	
80'000	236'977	307'629	254'539	CH alt bzw. ab 1.1.2011, QK-Stufe 1
100'000	298'343	388'791	321'616	EU Beanstandungsgrenze
100'538	300'000			
164'931	500'000			
127'092		500'000		
152'341			500'000	
200'000	610'066	804'624	665'093	CH alt, QK-Stufe 2
322'849	1'000'000			CH, QK Stufe 2
246'037		1'000'000		
295'121			1'000'000	
300'000	927'046	1'231'313	1'017'337	CH ab 1.1.2011 QK-Stufe 2
500'000	1'570'535	2'104'546	1'737'843	
1'000'000	3'211'500	4'355'466	3'593'814	
1'535'684	5'000'000			
1'140'561		5'000'000		
1'370'305			5'000'000	

8.2 Gegenüberstellung aller Analysenresultate

Die Gegenüberstellungen sämtlicher Analysenresultate aller Milchproben sind in [Tabelle 14](#) zusammengefasst. Zusammenhänge, die nach Bonferroni-Korrektur zumindest auf dem 1-%-Niveau signifikanten Korrelationskoeffizienten ergaben, wurden mit rotem Hintergrund hervorgehoben.

Tabelle 14:

Matrix der Pearson-Korrelationskoeffizienten sämtlicher Analyseresultate aller Milchproben

Pearson Correlation Matrix						
	log(IBC/mL)	log(IGCB/mL)	FETT	PROT	LACT	GP
log(IGCB/mL)	0.977					
FETT	-0.002	0.017				
PROT	0.065	0.100	0.312			
LACT	-0.176	-0.193	-0.088	0.085		
GP	0.030	0.012	0.055	0.179	0.299	
log(SCC)	0.145	0.171	0.075	0.014	-0.335	0.029
Anzahl Wertepaare						
	log(IBC/mL)	log(IGCB/mL)	FETT	PROT	LACT	GP
log(IGCB/mL)	606					
FETT	846	610				
PROT	846	610	850			
LACT	846	610	850	850		
GP	846	610	850	850	850	
log(SCC)	846	610	850	850	850	850

9 Bemerkungen, Folgerungen

Das Messniveau der drei Geräte Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount war abgestuft in der Reihenfolge: Bactoscan FC > Bactocount > Bactoscan 8000

Die Häufigkeitsverteilungen der Einzelmesswerte der beiden Flowcytometriergeräte (Bactoscan FC und Bactocount) waren sehr ähnlich ([Abbildung 2](#) und [Abbildung 3](#)). Bactoscan 8000 und insbesondere die Referenzmethode zeichneten sich durch eine stärkere Gewichtung der niedrigeren Zählwerte aus.

Der Vergleich mit der Referenzmethode ergab gute Korrelationen der instrumentell ermittelten Keimzahlen mit denjenigen der Referenzmethode. Mit den geprüften Geräten wird das Qualitätsmerkmal "Gehalt an aerob-mesophilen Keimen" zuverlässig erfasst ([Tabellen 4](#), [Abbildung 2](#)).

Die gekühlten Rohmilchproben wiesen einen geringen Keimgehalt auf, was wegen des relativ schmalen Wertefensters ungünstig zur Berechnung einer deutlichen Regression war ([Abbildung 5](#)). Erst durch die künstliche Erweiterung des Probenumfangs auf höhere Keimgehaltsklassen, indem die Hälfte der Proben während 6 Stunden bei 25°C inkubiert wurde, war es möglich, besser abgestützte Regressionslinien zu erzeugen ([Tabelle 4](#)).

Die in der Schweiz 2006 gültige Beanstandungsgrenze für Rohmilchqualität Stufe 1 von 200'000 imp/mL ([VHyMP](#), 2005) war strenger als die in der EU festgelegte Anforderung von 100'000 KbE/mL ([Tabelle 13](#)). Auch die heute gültige Beanstandungsgrenze von 80'000 Keime pro mL (entspricht 307'629 IBC/mL) ist strenger als die 100'000 KbE/mL.

Die Ergebnisse und Erfahrungen mit dem Bactocount konnten insgesamt als gut beurteilt werden, besonders wenn man bedenkt, dass praktisch unmittelbar nach der Installation und ohne Übungsperiode bereits gültige Resultate produziert werden mussten.

Die beiden Geräte Bactocount und Bactoscan FC ergaben gut vergleichbare Resultate. Die Vergleichbarkeit mit der Referenzmethode war gegeben. Die Wiederholbarkeit des Bactoscan FC war besser als beim bisher verwendeten Bactoscan 8000.

Beiden Geräten wird zugestanden, dass sie als Routinegeräte zur Bestimmung der Keimbelastung in Rohmilch gut geeignet sind.

Allerdings muss angemerkt werden, dass Messergebnisse von Proben mit Keimzahlen unter 10'000 Keime/mL mit einer relativ grossen Unsicherheit behaftet sind ([Abbildung 7a](#) und [Abbildung 7b](#)).

10 Dokumente, Adressen, Links

- ALP Intern 2006 Nr. 249, August 2006, Validierung des Bactoscan FC als Standardgerät zur Beurteilung der Rohmilch-Keimbelastung in der Schweiz - Monatsbericht Juni; Bühlmann G., 26 Seiten
- ALP Intern 2006 Nr. 250, August 2006, Validierung des BactoScan FC als Standardgerät zur Beurteilung der Rohmilch-Keimbelastung in der Schweiz - Monatsbericht Juli; Bühlmann G., 26 Seiten
- ALP intern 2006 Nr. 262, September 2006, Gerätevergleich BactoCount / BactoScan FC unter Verwendung von Testmilch AGROSCOPE - Teilbericht Wochen 32 und 33, 2006; Bühlmann G., 28 Seiten
- ALP intern 2006 Nr. 271, 16.11.06, Gerätevergleich BactoCount / BactoScan FC August und September 2006 - Schlussbericht Versuchsmilch; Bühlmann G., 32 Seiten
- ALP intern 2007 Nr. 333, September 2007, Keimbelastung der Schweizer Rohmilch – Situationsbericht 7 Monate seit der Einführung der Umrechnung der BactoScan-FC-Resultate; Bühlmann G., 28 Seiten
- ALP Versuchsprogramm, Einführung BactoScan FC in der Schweiz und Teilvalidierung des BactoCount. T. Berger 12. Juni 2006; 4 Seiten
- ISO 8196-1:2000 Milk -- Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis -- Part 1: Analytical attributes of indirect methods. International Standardisation Organisation, Geneva
- ISO 8196-2:2000 Milk -- Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis -- Part 2: Calibration and quality control in the dairy laboratory. International Standardisation Organisation, Geneva
- ISO 21187:2004 Milk - Quantitative determination of bacteriological quality - Guidance for establishing and verifying a conversion relationship between routine method results and anchor method results. International Standardisation Organisation, Geneva
- SLMB 2004. Aerobe mesophile Keime; Schweizerisches Lebensmittelbuch, EDMZ, Bern.
- SYSTAT13; Copyright 2008 by SYSTAT Software, Inc, Richmond, CA 94804, USA [www.systat.com]
- Technische Weisung für die Durchführung der Milchprüfung vom 1. Februar 2015 (ersetzt die Version vom 10. Februar 2014)
- Verordnung des EVD über die Hygiene bei der Milchproduktion (VHyMP) vom 23. November 2005 (Stand am 27. Dezember 2005)
- VERORDNUNG (EG) NR. 853/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

11 Dank

Diese Studie erfolgte im Auftrag des Bundesamtes für Veterinärwesen (BVET). Wir danken dem zuständigen Koordinator, Daniel Gerber, für die Anregung und die Unterstützung. Die Belegschaft des Qualitätskontrolllabors des damaligen MIBD Bern in Zollikofen mit dem Projektleiter Gérald Pittet leistete den zentralen Beitrag, indem sie zuständig für Beschaffung der Milch, die Aufbereiten der Proben, die Bedienung der Messgeräte und die Übermittlung der Geräteresultate war. Von der Gruppe "Mikrobiologische Analytik Agroscope" (Sandra Brunner, Martina Frank, Cora Weishaupt) kamen die Ergebnisse der Bestimmung der aerob-mesophilen Keimzahlen mit der Referenzmethode. Allen Beteiligten sei gedankt für die gute und nutzbringende Arbeit.

12 Anhang

12.1 Tabellen

[Tabelle 4A:](#) Testmilch: Agargussmethode PCM vs. Bactoscan 8000

[Tabelle 4B:](#) Testmilch: Agargussmethode PCM vs. Bactoscan FC

[Tabelle 4C:](#) Testmilch: Agargussmethode vs. Bactocount

[Tabelle 11A: Lieferantenmilch:](#) Bactoscan FC vs. Bactocount

[Tabelle 13A: Alle Milchproben:](#) Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC

[Tabelle 13B: Alle Milchproben:](#) Bactoscan 8000 vs. Bactocount

[Tabelle 13C: Alle Milchproben:](#) Bactoscan FC vs. Bactocount

12.2 Abbildungen

[Abb. 1:](#) Testmilch: Häufigkeitsverteilung der Keimzahlwerte (logarithmierte Werte)

[Abb. 2:](#) Testmilch: Vergleich der Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan FC Bactocount, Bactoscan 8000 vs. Agargussmethode

[Abb. 3:](#) Testmilch: Vergleich der logarithmierten Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC und Bactocount

[Abb. 4:](#) Testmilch: Quotienten der instrumentellen bestimmten Keimzahlen gegenüber den Zeitdifferenz der Messungen

[Abb. 5:](#) Testmilch: Scatterplot der instrumentell bestimmten Keimzahlwerte vs. KbE in Abhängigkeit der Probenvorbehandlung

[Abb. 6:](#) Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount mit denjenigen der Agargussmethode (logarithmierte Werte)

[Abb. 7a:](#) Testmilch: Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung Agargussmethode und Bactoscan 8000

[Abb. 7b:](#) Testmilch: Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung: Bactoscan FC und Bactocount

[Abb. 8:](#) Alle Proben: Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan FC und Bactocount in Abhängigkeit der Probenart

12.2.1 **Tabelle 4A:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit PCM vs. Bactoscan 8000 der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Agargussmethode - Bactoscan 8000

$\log(\text{KbE/mL}) = 0.969 * \log(\text{imp/mL}) - 0.305$ Multiple R: 0.891

Dependent Variable	KbE_log
N	395
Multiple R	0.891
Squared Multiple R	0.794
Adjusted Squared Multiple R	0.793
Standard Error of Estimate	0.429

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.305	0.122	0.000	.	-2.493	0.013
log(imp/mL)	0.969	0.025	0.891	1.000	38.889	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	-0.305	-0.546	-0.065	.
log(imp/mL)	0.969	0.920	1.018	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients

	CONSTANT	log(imp/mL)
CONSTANT	1.000	
log(imp/mL)	-0.984	1.000

Analysis of Variance

Source	SS	df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	277.915	1	277.915	1'512.319	0.000
Residual	72.221	393	0.184		

WARNING

Case 341 is an Outlier (Studentized Residual: 4.502)

12.2.2 **Tabelle 4B:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit PCM vs. Bactoscan FC der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Agargussmethode - Bactoscan FC

$$\log(\text{KbE/mL}) = 0.953 * \log(\text{IBC/mL}) - 0.327 \quad \text{Squared Multiple R: 0.845}$$

Dependent Variable	log(KbE/mL)
N	400
Multiple R	0.919
Squared Multiple R	0.845
Adjusted Squared Multiple R	0.845
Standard Error of Estimate	0.370

Regression Coefficients B = (X'X)⁻¹X'Y

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.327	0.103	0.000	.	-3.182	0.002
log(IBC/mL)	0.953	0.020	0.919	1.000	46.587	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	-0.327	-0.529	-0.125	.
log(IBC/mL)	0.953	0.913	0.994	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients

	CONSTANT	log(IBC/mL)
CONSTANT	1.000	
log(IBC/mL)	-0.984	1.000

Analysis of Variance

Source	SS	Df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	296.956	1	296.956	2'170.350	0.000
Residual	54.456	398	0.137		

WARNING

Case 274 is an Outlier (Studentized Residual: 3.959)

Case 341 is an Outlier (Studentized Residual: 4.950)

12.2.3 **Tabelle 4C:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Agargussmethode vs. Bactocount der Testmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Agargussmethode - Bactocount

$\log(\text{KbE/mL}) = 0.954 * \log(\text{IBCB/mL}) - 0.254$ Squared Multiple R: 0.825

Dependent Variable	$\log(\text{KbE/mL})$
N	160
Multiple R	0.908
Squared Multiple R	0.825
Adjusted Squared Multiple R	0.824
Standard Error of Estimate	0.461

Regression Coefficients $B = (X'X)^{-1}X'Y$

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	-0.254	0.187	0.000	.	-1.354	0.178
$\log(\text{IBCB/mL})$	0.954	0.035	0.908	1.000	27.301	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	-0.254	-0.623	0.116	.
$\log(\text{IBCB/mL})$	0.954	0.885	1.023	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients

	CONSTANT	$\log(\text{IBCB/mL})$
CONSTANT	1.000	
$\log(\text{IBCB/mL})$	-0.981	1.000

Analysis of Variance

Source	SS	Df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	158.137	1	158.137	745.328	0.000
Residual	33.523	158	0.212		

WARNING

Case 271 is an Outlier (Studentized Residual: 3.737)

Case 341 is an Outlier (Studentized Residual: 3.701)

12.2.4 **Tabelle 11A:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC vs. Bactocount der Lieferantenmilchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Bactoscan FC - Bactocount

$\log(\text{IBC}/\text{mL}) = 0.986 * \log(\text{IBCB}/\text{mL}) + 0.159$	Squared Multiple R: 0.961
--	---------------------------

Dependent Variable	log(IBC/mL)
N	406
Multiple R	0.980
Squared Multiple R	0.961
Adjusted Squared Multiple R	0.961
Standard Error of Estimate	0.165

Regression Coefficients B = (X'X) ⁻¹ X'Y						
Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.159	0.047	0.000	.	3.402	0.001
log(IBCB/mL)	0.986	0.010	0.980	1.000	99.700	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients				
Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	0.159	0.067	0.251	.
log(IBCB/mL)	0.986	0.967	1.006	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients		
	CONSTANT	log(IBCB/mL)
CONSTANT	1.000	
log(IBCB/mL)	-0.984	1.000

Analysis of Variance					
Source	SS	Df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	271.307	1	271.307	9'940.172	0.000
Residual	11.027	404	0.027		

WARNING

- | |
|---|
| Case 745 is an Outlier (Studentized Residual: -8.748) |
| Case 750 is an Outlier (Studentized Residual: -6.103) |

12.2.5 **Tabelle 13A:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Bactoscan 8000 - Bactoscan FC

$$\log(\text{imp/mL}) = 0.930 * \log(\text{IBC/mL}) + 0.232$$

Multiple R: 0.970

Dependent Variable	log(imp/mL)
N	435
Multiple R	0.970
Squared Multiple R	0.942
Adjusted Squared Multiple R	0.942
Standard Error of Estimate	0.205

Regression Coefficients B = (X'X)⁻¹X'Y

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.232	0.055	0.000	.	4.186	0.000
log(IBC/mL)	0.930	0.011	0.970	1.000	83.590	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	0.232	0.123	0.341	.
log(IBC/mL)	0.930	0.908	0.952	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients

	CONSTANT	log(IBC/mL)
CONSTANT	1.000	
log(IBC/mL)	-0.984	1.000

Analysis of Variance

Source	SS	df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	295.028	1	295.028	6'987.286	0.000
Residual	18.283	433	0.042		

WARNING

Case 354 is an Outlier (Studentized Residual: 4.480)

12.2.6 **Tabelle 13B:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan 8000 vs. Bactocount, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Bactoscan 8000 - Bactocount

$$\log(\text{imp/mL}) = 0.879 * \log(\text{IBCB/mL}) + 0.535$$

Multiple R: 0.965

Dependent Variable	log(imp/mL)
N	200
Multiple R	0.965
Squared Multiple R	0.931
Adjusted Squared Multiple R	0.930
Standard Error of Estimate	0.245

Regression Coefficients B = (X'X)⁻¹X'Y

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.535	0.089	0.000	.	6.031	0.000
log(IBCB/mL)	0.879	0.017	0.965	1.000	51.600	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	0.535	0.360	0.710	.
log(IBCB/mL)	0.879	0.846	0.913	1.000

Correlation Matrix of Regression Coefficients

	CONSTANT	log(IBCB/mL)
CONSTANT	1.000	
log(IBCB/mL)	-0.981	1.000

Analysis of Variance

Source	SS	Df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	160.102	1	160.102	2'662.584	0.000
Residual	11.906	198	0.060		

WARNING

Case 267 is an Outlier (Studentized Residual: 4.962)

12.2.7 **Tabelle 13C:**

Regressionsanalyse der Keimzahlbestimmungen mit Bactoscan FC vs. Bactocount, alle Milchproben (logarithmierte Werte pro mL)

Bactoscan FC - Bactocount

$$\log(\text{IBC/mL}) = 0.968 * \log(\text{IBCB/mL}) + 0.232 \quad \text{Multiple R: } 0.977$$

Dependent Variable	log(IBC/mL)
N	606
Multiple R	0.977
Squared Multiple R	0.955
Adjusted Squared Multiple R	0.955
Standard Error of Estimate	0.193

Regression Coefficients B = (X'X)⁻¹X'Y

Effect	Coefficient	Standard Error	Std. Coefficient	Tolerance	t	p-Value
CONSTANT	0.232	0.042	0.000	.	5.566	0.000
log(IBCB/mL)	0.968	0.009	0.977	1.000	113.430	0.000

Confidence Interval for Regression Coefficients

Effect	Coefficient	95.0% Confidence Interval		VIF
		Lower	Upper	
CONSTANT	0.232	0.150	0.314	.
log(IBCB/mL)	0.968	0.951	0.985	1.000

Analysis of Variance

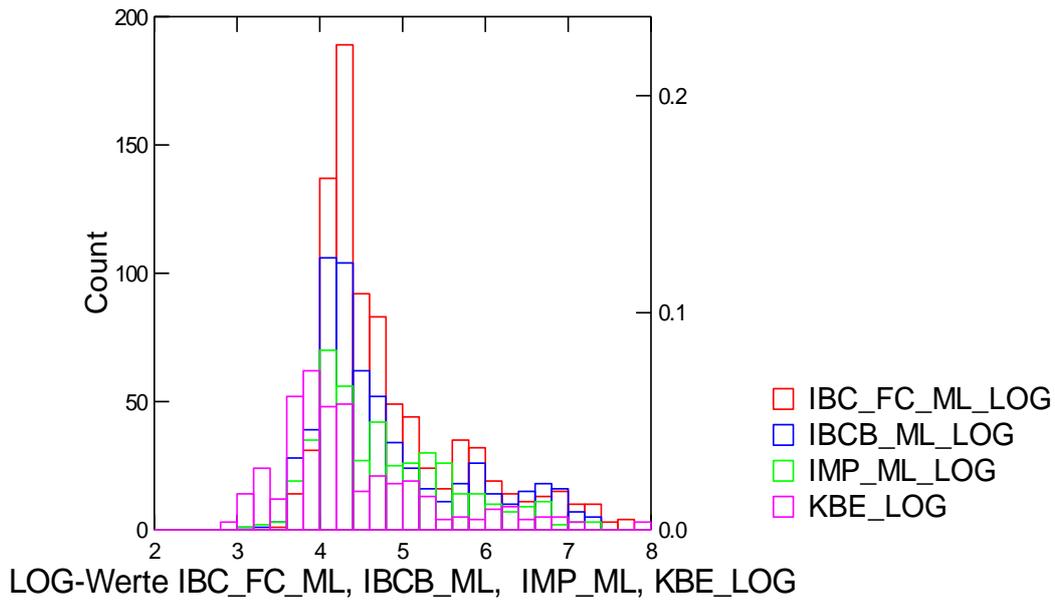
Source	SS	Df	Mean Squares	F-Ratio	p-Value
Regression	481.419	1	481.419	12'866.456	0.000
Residual	22.600	604	0.037		

WARNING

Case	263	is an Outlier	(Studentized Residual: 4.495)
Case	267	is an Outlier	(Studentized Residual: 7.388)
Case	271	is an Outlier	(Studentized Residual: 5.262)
Case	332	is an Outlier	(Studentized Residual: -4.497)
Case	746	is an Outlier	(Studentized Residual: -7.054)
Case	751	is an Outlier	(Studentized Residual: -5.007)

12.2.8 Abbildung 1:

Häufigkeitsverteilung der logarithmierten Werte gemessen mit Bactoscan FC (IBC/mL), Bactocount (IBCB/mL), Bactoscan 8000 (Imp/mL) und Agargussmethode (KbE/mL)



IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

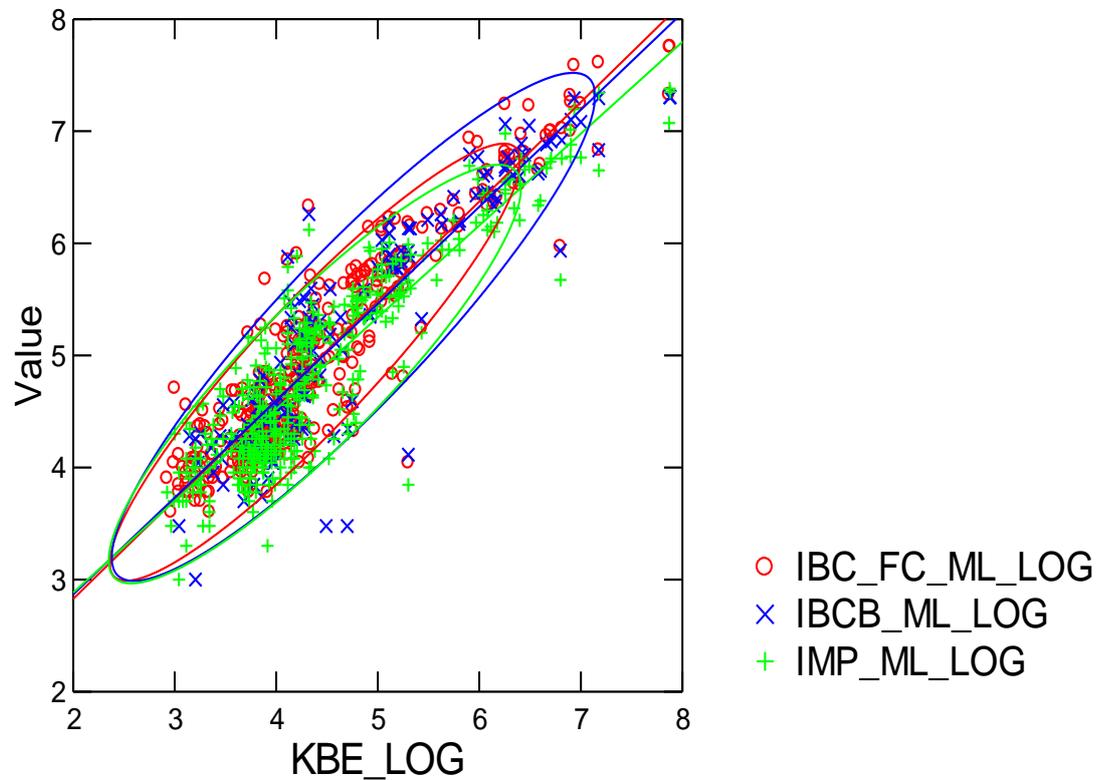
IBCB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)

KBE_LOG: Keimzahl Agargussmethode log(Koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

12.2.9 Abbildung 2:

Vergleich der Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan FC ($\log(\text{IBC})/\text{mL}$), Bactocount ($\log(\text{ICB})/\text{mL}$), Bactoscan 8000 ($\log(\text{imp})/\text{mL}$) und Agargussmethode (KbE/mL) (Regressionsgeraden und 90% Ellipsen)



KBE_LOG: Keimzahl Agargussmethode $\log(\text{Koloniebildende Einheiten pro Milliliter})$

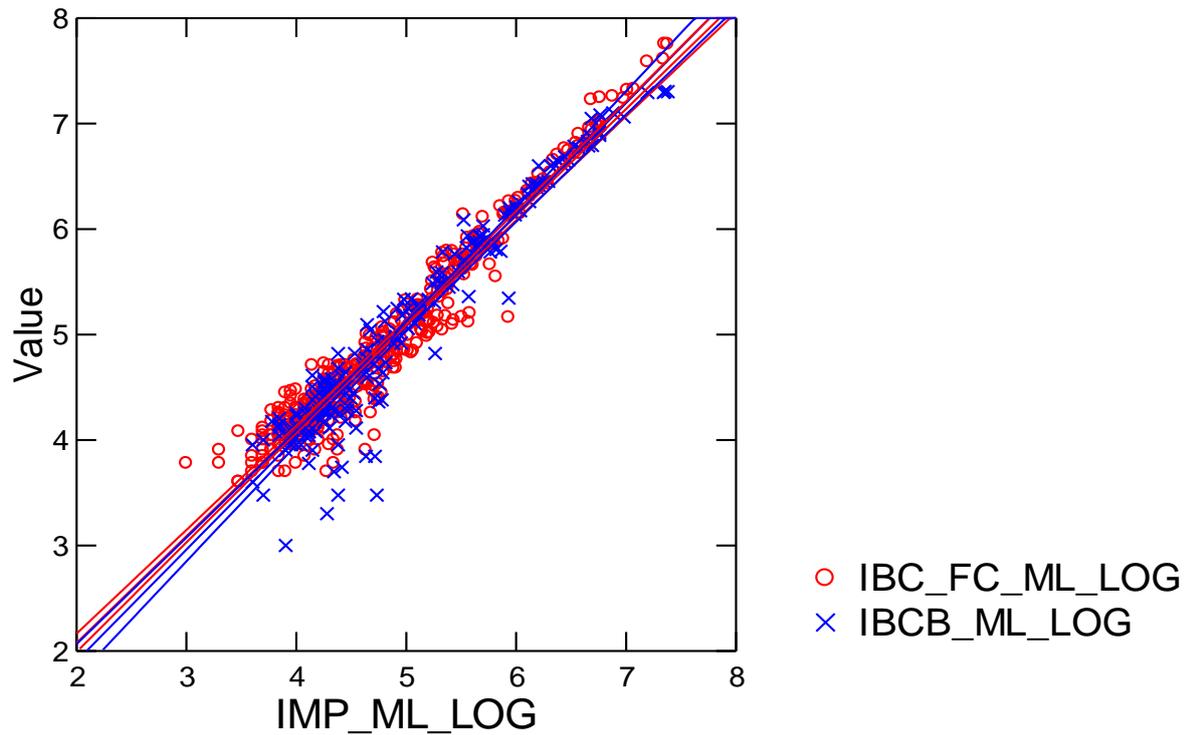
IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 $\log(\text{Impulse pro Milliliter})$

IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC $\log(\text{Impulse pro Milliliter})$

ICB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount $\log(\text{Impulse pro Milliliter})$

12.2.10 Abbildung 3:

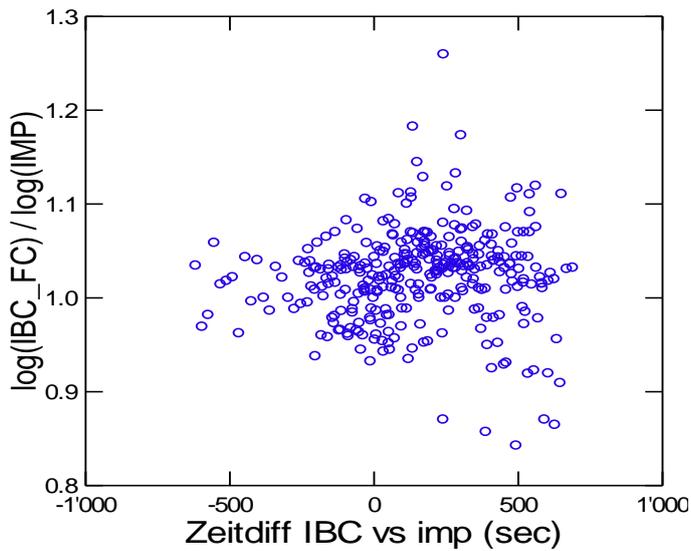
Vergleich der logarithmierten Keimzahlwerte gemessen mit Bactoscan 8000 vs. Bactoscan FC und Bactocount (Regressionsgeraden und 95% Konfidenzintervalle)



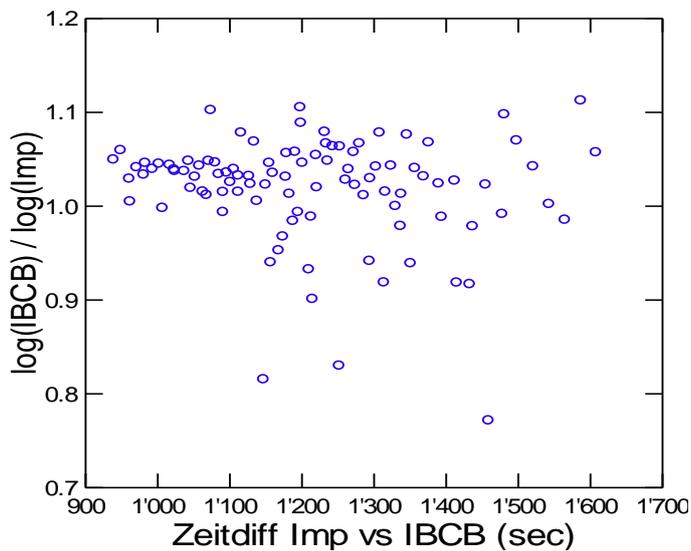
IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)
IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)
IBCB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

12.2.11 Abbildung 4:

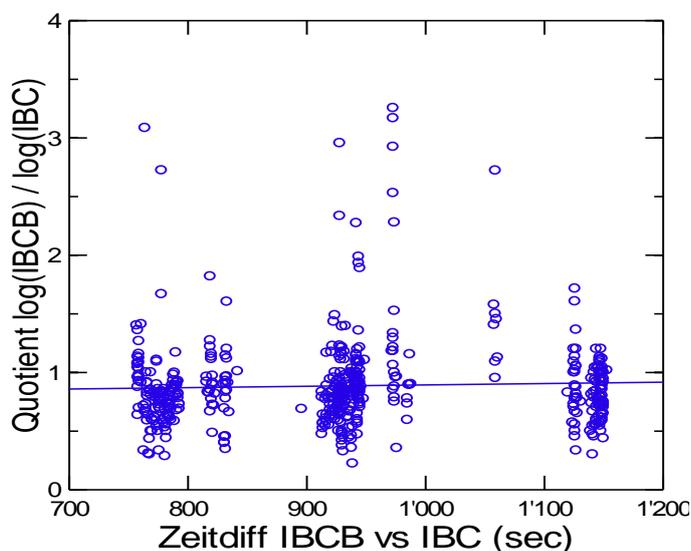
Quotienten der mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount gemessenen Keimzahlen in Abhängigkeit der Zeitdifferenzen zwischen den Messungen (sec)



Quotient Bactoscan FC / Bactoscan 8000 vs. Zeitintervall der Messungen



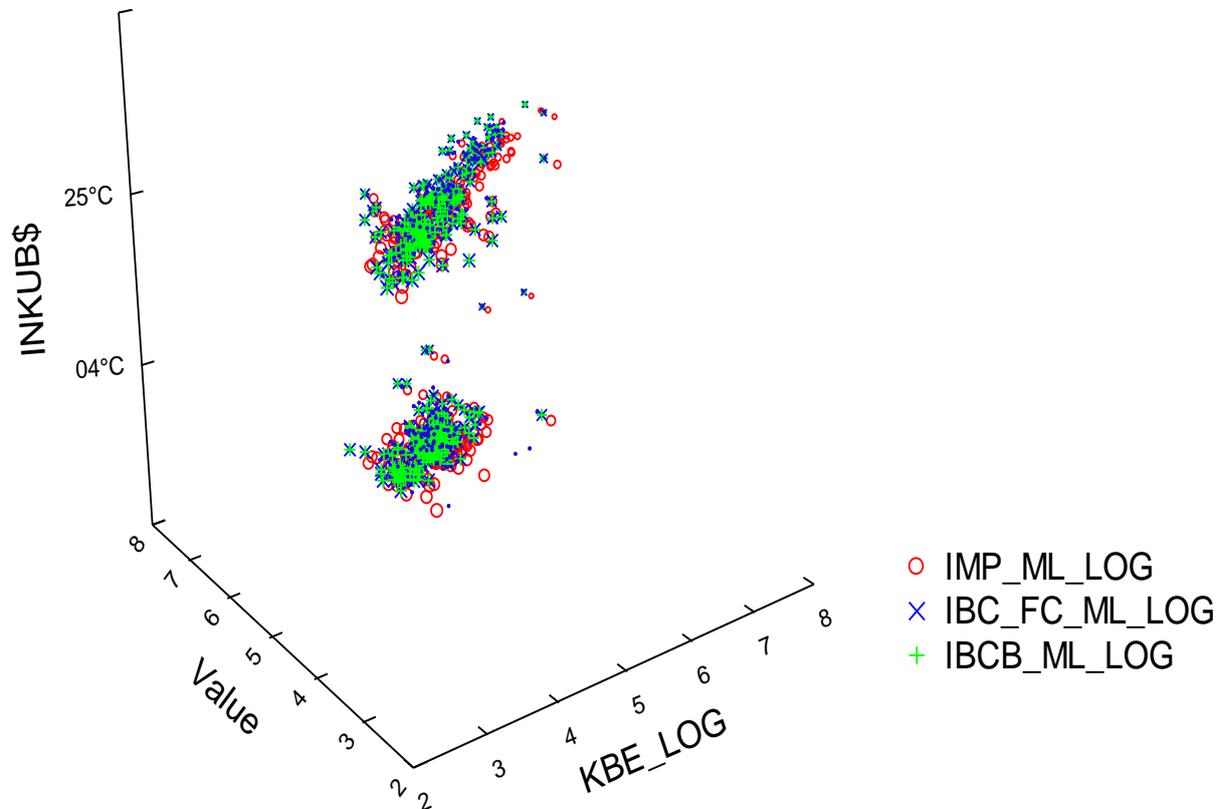
Quotient Bactocount / Bactoscan 8000 vs. Zeitintervall der Messungen



Quotient Bactocount / Bactoscan FC vs. Zeitintervall der Messungen

12.2.12 Abbildung 5:

Scatterplot der instrumentell (Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount) bestimmten Keimzahlwerte vs. KbE in Abhängigkeit davon, ob Proben vorbebrütet oder nicht



4°C: Proben konstant bei 4°C gelagert; 25°C: Proben während 6h bei 25°C inkubiert

KBE_LOG: Keimzahl Agargussmethode log(Koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

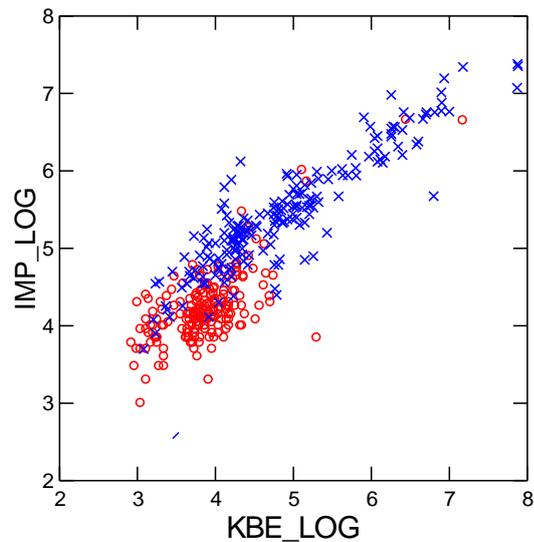
IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)

IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

IBCB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

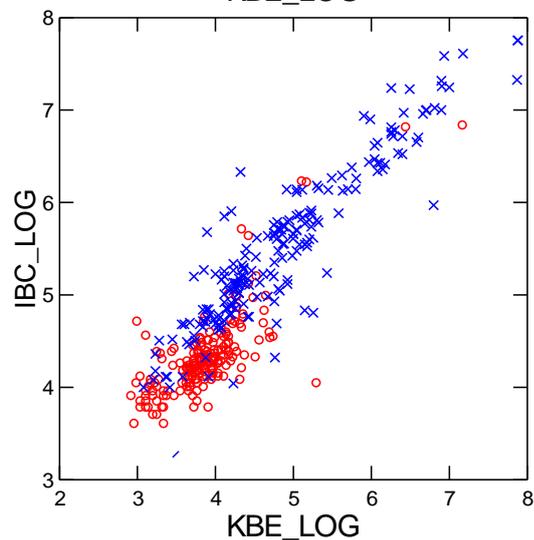
12.2.13 Abbildung 6:

Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan 8000, Bactoscan FC und Bactocount mit denjenigen der Agargussmethode (logarithmierte Werte)



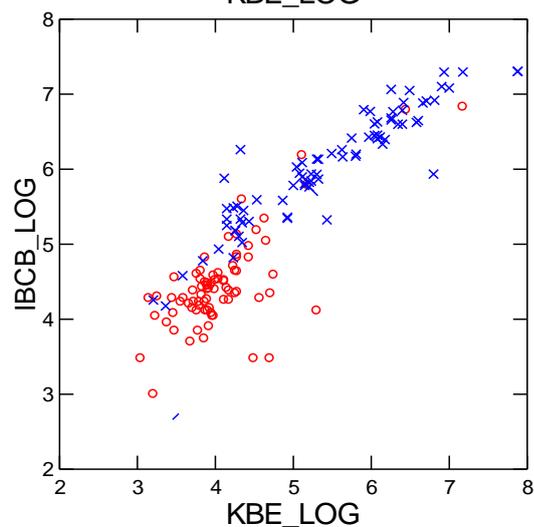
Ergebnisse der Keimzahlbestimmung mit der Referenzmethode vs. der Messung mit Bactoscan 8000

INKUB\$
○ 04°C
× 25°C



Ergebnisse der Keimzahlbestimmung mit der Referenzmethode vs. der Messung mit Bactoscan FC

INKUB\$
○ 04°C
× 25°C



Ergebnisse der Keimzahlbestimmung mit der Referenzmethode vs. der Messung mit Bactocount

INKUB\$
○ 04°C
× 25°C

KBE_LOG: Keimzahl Agargussmethode log(Koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

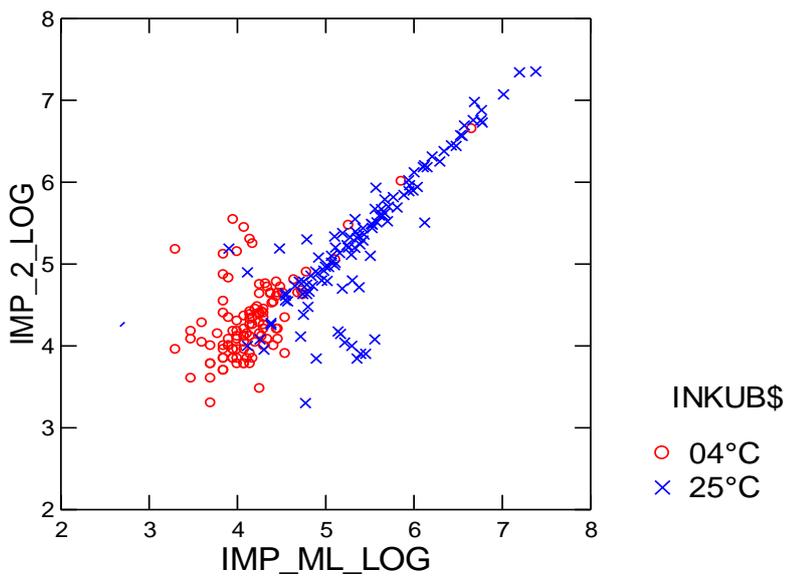
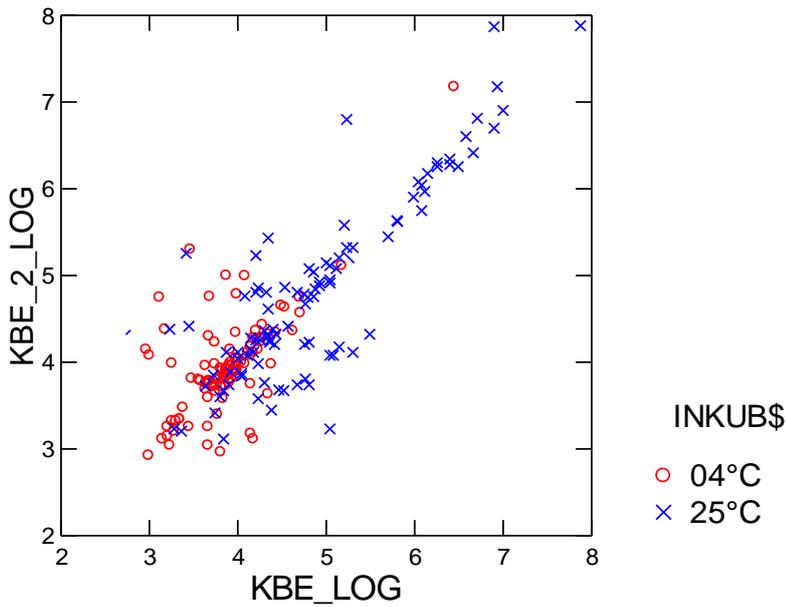
IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)

IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

ICB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

12.2.14 Abbildung 7a:

Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung: Agargussmethode und Bactoscan 8000



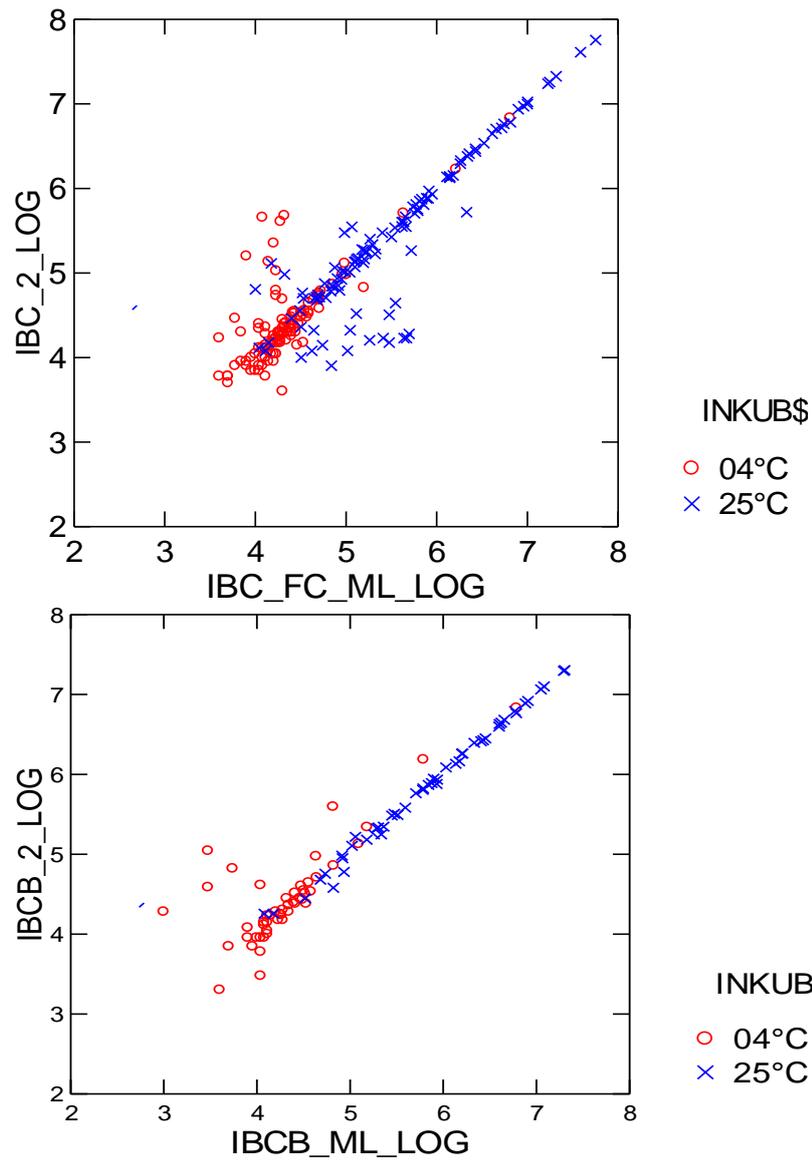
4°C gelagert 25°C inkubiert

KBE_LOG: Keimzahl Agargussmethode log(Koloniebildende Einheiten pro Milliliter)

IMP_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan 8000 log(Impulse pro Milliliter)

12.2.15 Abbildung 7b:

Repetierbarkeit der verschiedenen Methoden zur Keimzählung: Bactoscan FC und Bactocount



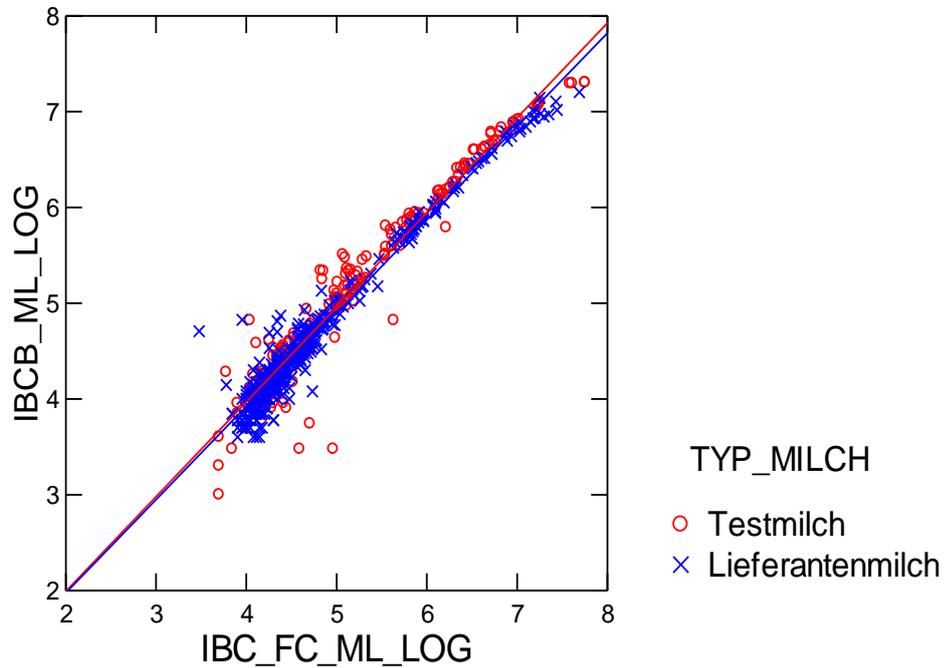
4°C gelagert 25°C inkubiert

IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

IBCB_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)

12.2.16 Abbildung 8:

Gegenüberstellung der Keimzahlergebnisse gemessen mit Bactoscan FC und Bactocount aller Proben (logarithmierte Werte)



IBC_FC_ML_LOG: Keimzahlen Bactoscan FC log(Impulse pro Milliliter)

IBC_ML_LOG: Keimzahlen Bactocount log(Impulse pro Milliliter)