

# Umrechnung für Bactoscan FC



**Rotholz 50a - 6200 Rotholz - Österreich**

☎ +43 (0)5244 62262    📠 +43 (0)5244 62262 29

direktion@rotholz.lebensministerium.at - <http://www.bam-rotholz.at>

**Bundesanstalt für Alpenländische Milchwirtschaft Rotholz**

**Abschlussbericht zu Projekt**

**BAM 3W/98 - Umrechnung für Bactoscan FC**

**Projektleiter: Dr. P. Zangerl**

**Beteiligte Institutionen: AMA, Firma Prochaska**

**Laufzeit: 1998 bis 1999**

# Inhaltsverzeichnis

1	Problemstellung .....	1
2	Material und Methodik .....	2
2.1	Material.....	2
2.2	Methodik.....	2
2.2.1	Probenahme und Ablauf der Untersuchungen:.....	2
2.2.2	Plattenkeimzahl .....	2
2.2.3	Bactoscan FC .....	3
2.2.4	Bactoscan 8000.....	4
2.2.5	Zellzahl und chemische Parameter .....	4
3	Ergebnisse und Diskussion.....	4
3.1	Messstabilität .....	4
3.2	Verschleppung .....	10
3.3	Wiederholbarkeit .....	12
3.4	Beziehung BSC FC zu BSC 8000 .....	13
3.5	Beziehung zwischen BSC FC Impulsen und Plattenkeimzahlen .....	15
3.6	Matrixleerwert und Differenzierung im Keimzahlbereich von < 10.000 Kbe/ml.....	19
3.7	Einfluss der Zellzahl auf die BSC FC Impulse.....	20
3.8	Vergleich der Keimzahlergebnisse von BSC FC, BSC 8000 und SPC/ml .....	21
4	Zusammenfassung .....	23
5	Literatur .....	24

---

### 1 Problemstellung

Zur Keimzählung in Rohmilch hat die Firma FOSS ein neues Bactoscan (BSC) Gerät entwickelt (BSC FC). Während die Zählung der Bakterien im bisher verwendeten BSC 8000 auf einer mikroskopischen Fluoreszenzzählung beruht, werden die Keime im BSC FC mittels Durchflussscytometrie erfasst. Weiters bestehen wesentliche Unterschiede zwischen den Verfahren in der Art der Probenaufarbeitung und im verwendeten Fluoreszenzfarbstoff. Beim BSC 8000 wird Acridinorange, beim BSC FC Ethidiumbromid als Farbstoff eingesetzt. Die Messmethodik und die Beurteilung dieses Routineverfahrens auf der Grundlage des IDF Standard 161A (1995) sind bei SUHREN und WALTE (1998) beschrieben. Da ab 01.01.1999 das BSC FC auch in Österreich verwendet wird, ist ein Vergleich der Impulswerte der beiden Bactoscan-Versionen notwendig. Durch diesen Vergleich können BSC FC Impulse in BSC 8000 Impulse umgerechnet werden. Weiters muss die Beziehung zum Plattenverfahren, das die Referenzmethode bei der Beurteilung der Milch nach Milchhygieneverordnung darstellt, überprüft werden. Zudem soll nach den Vorstellungen der Rohmilchuntersuchungsstellen die Messuntergrenze von derzeit 10.000 KbE/ml auf 1.000 KbE/ml herabgesetzt werden. Ziel der Arbeit war es daher folgende Punkte abzuklären:

- Messstabilität des Bactoscan FC, Verschleppung, Wiederholbarkeit
- Umrechnung von BSC FC- in BSC 8000-Impulse
- Beziehung zwischen BSC FC und Plattenkeimzahl
- Differenzierungsmöglichkeit im unteren Keimzahlbereich (< 10.000 KbE/ml)

## 2 Material und Methodik

### 2.1 Material

Im Jahre 1998 wurden ca. 1.500 Anlieferungsmilchproben aus dem Tiroler Raum in einem Zeitraum von 5 Wochen (Nov., Dez. 1998) parallel mit dem BSC FC und BSC 8000 untersucht. Bei 891 Proben wurde die Plattenkeimzahl ermittelt. Von diesen Proben stammten ca. 40% aus eintägiger und ca. 60% aus zweitägiger Abholung. Neben den Keimzahlen wurden die Zellzahl und die Gehalte an Fett, Eiweiß, Lactose und fettfreier Trockenmasse ermittelt. In einer weiteren Untersuchungsserie im Jahre 1999(08.-16.11.1999) wurden von 504 Anlieferungsmilchproben aus zweitägiger Abholung die Impulszahlen von BSC FC, BSC 8000 und die Plattenkeimzahlen ermittelt.

### 2.2 Methodik

#### 2.2.1 Probenahme und Ablauf der Untersuchungen:

Die Probenahme erfolgte automatisch im Tanksammelwagen. Proben, die parallel mit der Plattenkeimzahl untersucht wurden, wurden nicht konserviert. Nach Ankunft im Labor wurden nach vorhergehendem Standardschütteln ca. 10 ml für die Bestimmung der Plattenkeimzahl entnommen und bis zur Untersuchung in Eiswasser gelagert. Der Rest des Inhaltes im Probefläschchen (ca. 30 ml) wurde mit 0,1 ml Azidiol (Merck) konserviert. Die Bestimmung der Plattenkeimzahl, der BSC FC- und BSC 8000-Impulse erfolgte innerhalb von 3 Stunden. Die konservierten Proben wurden zuerst im BSC FC gemessen und nach Wiederverschließen des Fläschchens nach Anwärmung auf 40°C im BSC 8000 untersucht. Die Bestimmung der Zellzahl und der chemischen Parameter erfolgte üblicherweise am nächsten Tag.

#### 2.2.2 Plattenkeimzahl

Die Plattenkeimzahl wurde aus der unkonservierten Milch nach IDF-Standard 100B (1991) in Einfachbestimmung ermittelt - Plate Count Agar mit Magermilchpulver (Merck), 72h, 30°C. Jede zehnte Probe wurde mittels Doppelbestimmung (unabhängige Verdünnungsreihen) untersucht. Die Verdünnung erfolgte mit Ringerlösung (Merck) nach IDF Standard 122C (1996). Abweichend davon wurde eine Primärverdünnung 1:100 (1 Teil Probe + 99 Teile Ringerlösung) anstelle 1:10 verwendet. Im Jahre 1998 wurden die Keimzahlen aus den Verdünnungen  $10^{-3}$  und  $10^{-4}$ , im Jahre 1999 aus den Verdünnungen  $10^{-2}$  und  $10^{-3}$  ermittelt. Personen, die mit der Durchführung und Auswertung betraut waren, erfüllten die im IDF Standard 169 (1994) festgesetzten Anforderungen.

### 2.2.3 Bactoscan FC

Die Herstellung der Chemikalien und die Messung der Proben erfolgte nach den Anweisungen des Herstellers. Die Proben wurden nach zehnmaligem Schwenken des Probenstatives ohne Erwärmung im BSC gemessen. Pro Untersuchungsserie war das Gerät 3 bis 5 Stunden in Betrieb.

#### Überprüfung der Funktionsfähigkeit und Messkonstanz

Nach dem Starten des Gerätes wurde die BSC-Blindlösung in 10fach Wiederholung gemessen. Die Einzelwerte müssen unter 5 Impulsen, der Mittelwert unter 3 Impulsen liegen. Zu Beginn und am Ende eines Untersuchungstages wurde eine Bakterienkontrollprobe (BKP, FOSS), ein Milchstandard (HÜFNER) und eine Sammelmilch aus einem Tankwagen („Kontrollmilch“ – Messung nur im Jahre 1998) nach dem in Tab. 1 beschriebenen Schema untersucht. Während des Untersuchungszeitraumes 1998 wurden 2 Milchstandards und ein Bakterienkontrollstandard sowie eine Kontrollmilchcharge verwendet.

BKP bzw. Milchstandard müssen innerhalb  $\pm 15\%$  bzw.  $\pm 10\%$  eines vorgegebenen Sollwertes liegen. Die BKP liegt in gefriergetrockneter Form vor und wurde nach den Anweisungen des Herstellers eingesetzt. Der Milchstandard und die Kontrollmilch wurden bei  $-18^{\circ}\text{C}$  gelagert und vor der Messung im handwarmen Wasserbad aufgetaut. Für die Herstellung der Kontrollmilch wurden 2 Liter Tankmilch nach Zusatz von 7 ml Azidiol im lauwarmen Wasserbad auf Zimmertemperatur erwärmt und nach 15minütigem Rühren ca. 30 ml in Probefläschchen abgefüllt. Unmittelbar danach erfolgte das Tiefrieren auf  $-18^{\circ}\text{C}$ . Nach einem Tag Lagerung ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) wurde der Basiswert der Kontrollprobe als Mittelwert von 8 Wiederholmessungen bestimmt.

#### Verschleppung, Wiederholbarkeit

Zur Feststellung der Verschleppung und der Wiederholbarkeit wurden 113 Milchproben in Doppelbestimmung untersucht. Zur Verschleppungsprüfung bei hohen Keimzahlen wurde eine Tankmilchprobe bei  $7^{\circ}\text{C}$ ,  $15^{\circ}\text{C}$  und Zimmertemperatur ein bis 2 Tage bebrütet und konserviert. Nach jeder Probenmessung wurden die Impulse von zwei aufeinanderfolgenden Fläschchen mit BSC-Blindlösung (Blindwert) ermittelt.

Verschleppung % =  $\text{Blindwert} / \text{Impulse vorhergehende Probe} \times 100$

#### Matrixleerwert

Zur Abschätzung des Matrixleerwertes wurden im Jahre 1999 2 frisch ermolkene Milchproben in der Beckmann Zentrifuge J2-MC, 30 min. bei 10.000 UPM,  $4^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert und nach Konservierung im BSC FC gemessen.

Tabelle 1: Reihenfolge der Kontrolluntersuchungen zu Beginn und am Ende eines jeden Arbeitstages:

Probe	Anzahl Fläschchen	Wiederholungen pro Fläschchen
Blindprobe	3	1
BCS	1	3
Blindprobe	3	1
Milchstandard	2	2
Blindprobe	3	1
Kontrollmilch	2	2
Blindprobe	3	1

### 2.2.4 Bactoscan 8000

Die Untersuchung erfolgte nach Anwärmung der Proben auf 40°C durch die Bediensteten der Milchuntersuchungsstelle Rotholz nach den geltenden Vorschriften im Rahmen der Routineuntersuchung. Da die erste Milchprobe nicht verschleppungsfrei gemessen wurde, wurde für die Auswertung jeweils der erste Wert einer Untersuchungsserie entfernt. Bei einer Untersuchungsserie konnte die Messung im BSC 8000 nicht durchgeführt werden.

### 2.2.5 Zellzahl und chemische Parameter

Die Zellzahl wurde mit Fossomatik 5000; Fett, Eiweiß, Lactose und fettfreie Trockenmasse mit Milkoscan 4000 durch die Bediensteten der Milchuntersuchungsstelle Rotholz nach den geltenden Vorschriften bestimmt. Bei einer Messerie wurde Fossomatik 360 und Milkoscan 605B verwendet.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Messstabilität

Alle Einzelmessungen von Bakterienkontrollprobe und der Milchstandards lagen 1998 innerhalb der vorgegebenen Sollbereiche (Abb. 1 und 2). Die Abweichungen von den Sollwerten lagen in jedem Fall unter  $\pm 10\%$  der Sollwerte. Aus den Abbildungen ist auch

## Umrechnung für Bactoscan FC

---

ersichtlich, dass das Gerät während des Untersuchungszeitraumes stabile Messergebnisse lieferte. Tab. 2 gibt die statistischen Parameter der unlogarithmierten und logarithmierten Werte an. Die Kontrollmilch wies größere Streuungen auf als der Milchstandard (Tab. 2, Abb. 2 und 3). Für die Darstellung der Messstabilität in Abb. 3 wurden 3 Ausreißer (263, 268, 255 Impulse) entfernt. Bei der Kontrollmilch kann aus Abb. 4 ein Trend zu niedrigeren Keimzahlen mit fortschreitender Untersuchungsdauer abgelesen werden (nach ca. 3 Wochen). Die Abbildung 4 zeigt auch, dass die Mittelwerte aus 4 Einzelmessungen üblicherweise ebenfalls innerhalb  $\pm 10\%$  vom Basiswert liegen.

Tabelle 2: Ergebnisse der Kontrolluntersuchungen (Impulse) – Daten 1998

	BKP <sup>a</sup> Sollwert 1.880	MS <sup>b</sup> 11/85 Sollwert 184	MS <sup>b</sup> 12/85 Sollwert 188	Kontrollmilch Basiswert 174
Anzahl	66	32	56	92
Mittelwert	1.864	188	192	169
Standardabw.	49	7	8	24
Variationskoeff. %	2,6	3,6	4,0	14,1
log-Werte				
Mittelwert	3,270	2,275	2,283	2,225
Standardabw.	0,011	0,016	0,017	0,055
Variationskoeff. %	0,34	0,69	0,76	2,48

<sup>a</sup> Bakterienkontrollprobe

<sup>b</sup> Milchstandard



## Umrechnung für Bactoscan FC

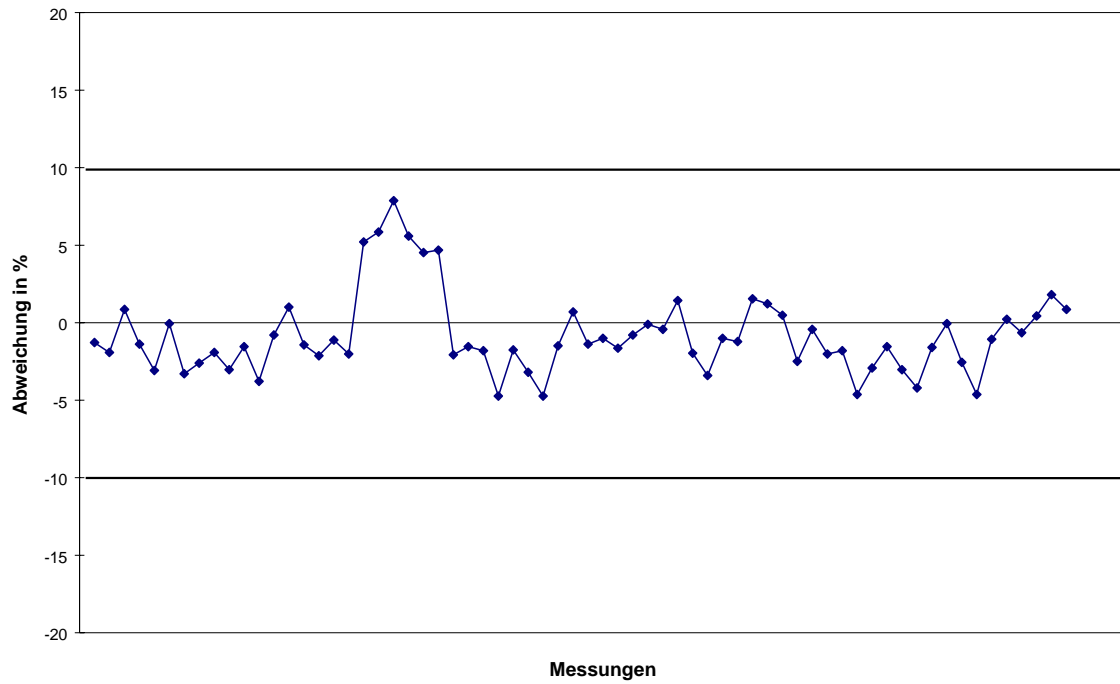


Abbildung 1: Bakterienkontrollprobe BKP: Abweichung in Prozent des Sollwertes (Einzelwerte) – Daten 1998

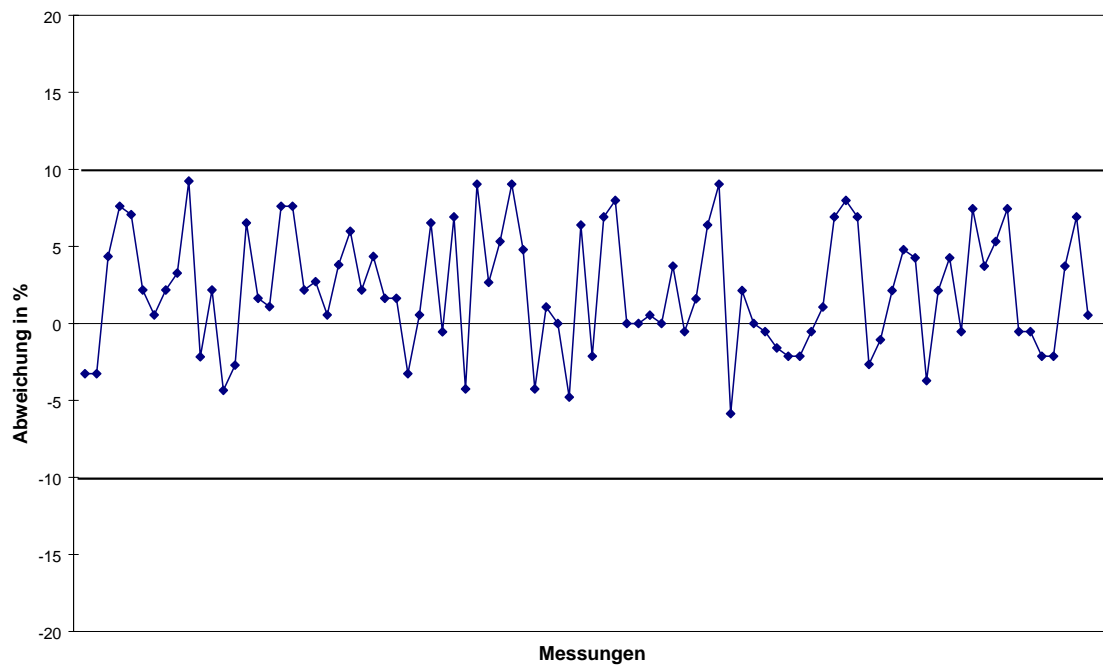


Abbildung 2: Milchstandard: Abweichung in Prozent vom Sollwert (Einzelwerte) – Daten 1998

## Umrechnung für Bactoscan FC

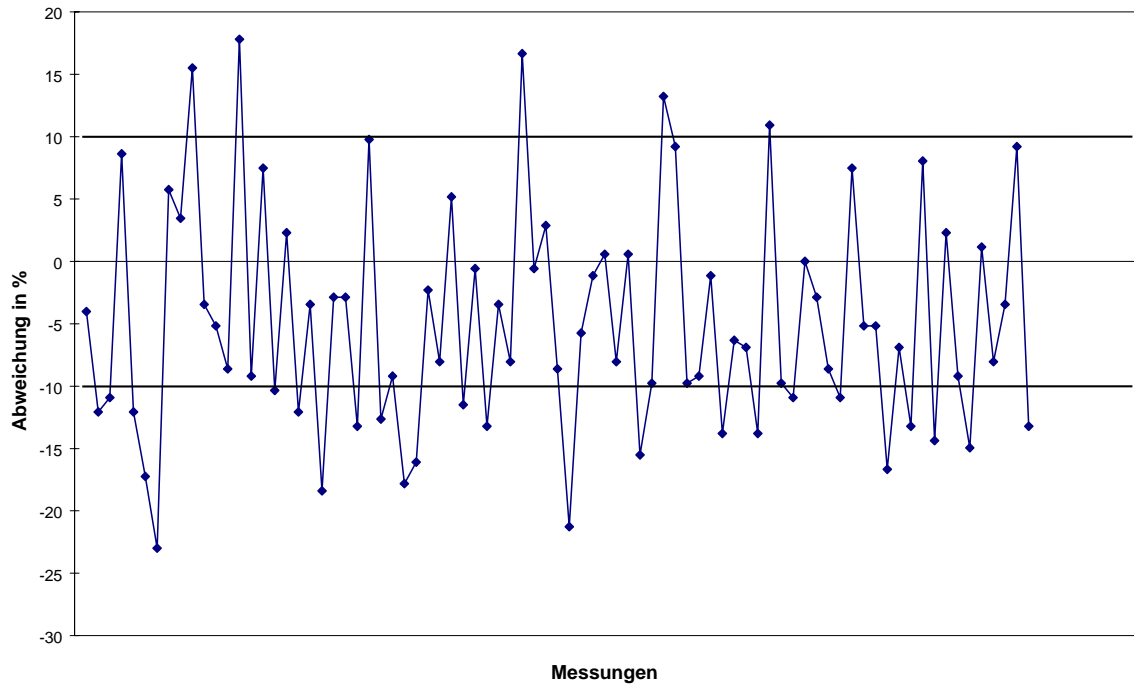


Abbildung 3: Kontrollmilch: Abweichung in Prozent vom Basiswert (Einzelwerte – 3 Ausreißer entfernt) - Daten 1998

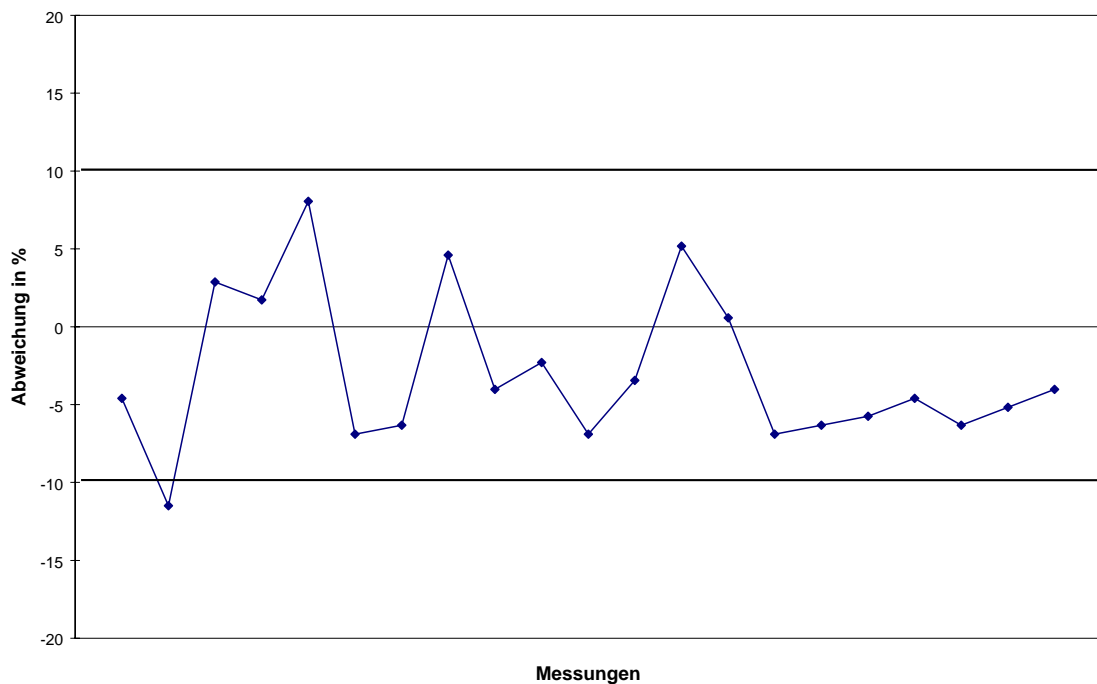


Abbildung 4: Kontrollmilch: Abweichung in Prozent vom Basiswert (Mittelwerte) – Daten 1998

Bei der Untersuchung im Jahre 1999 lagen wiesen die BKP-Ergebnisse Abweichungen von +1,0 bis + 7,4% vom Sollwert (=2113 Impulse) auf. Die Ergebnisse des Milchstandards lagen durchschnittlich um 14,1% über dem Sollwert (=161 Impulse).

Da BKP und Milchstandard Reinkulturen enthalten, weisen die Impulsverteilungen eine angenäherte Normalverteilung auf (Abbildung 5 und 6).

## Umrechnung für Bactoscan FC

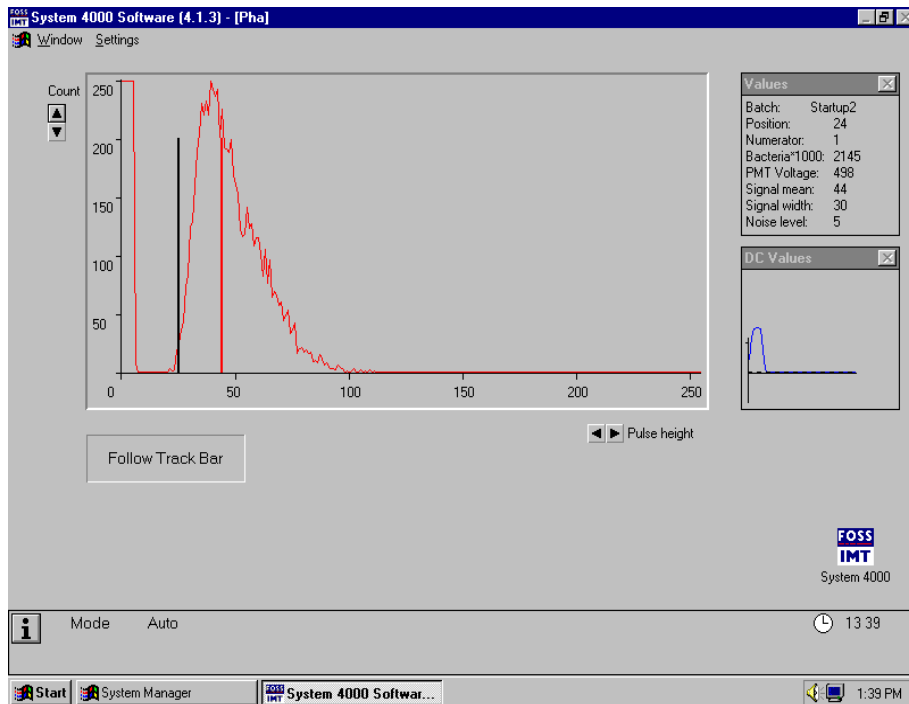


Abbildung 5: Impulshöhenanalyse der Bakterienkontrollprobe (Untersuchung 1999)

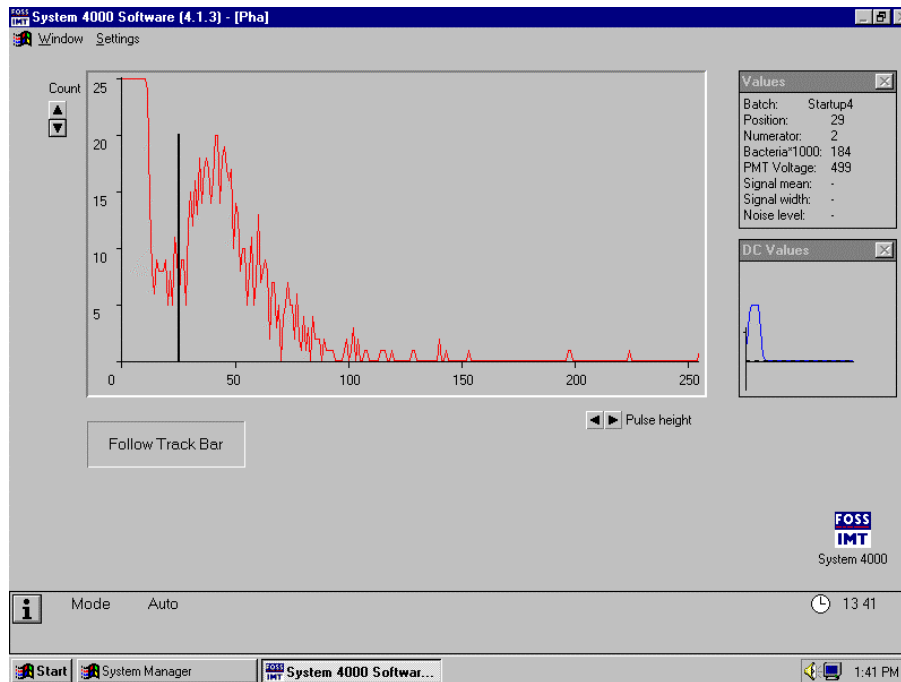


Abbildung 6: Impulshöhenanalyse des Milchstandards (Untersuchung 1999)

### 3.2 Verschleppung

Aus Abbildung 7 ist ersichtlich, dass bei der Untersuchung von Milchproben erst ab 3.000 Impulsen ( $\approx 3,5 \log$ ) mit einer Verschleppung zu rechnen ist (Impulse der nachfolgenden Blindproben über 10). Eine Verschleppung wurde daher erst ab 1.000 Impulsen berücksichtigt. Tab. 3 gibt die Verschleppungskorrektur sowohl für die BSC FC Werte als auch für die BSC 8000-Werte an. Die ab  $\geq 1.000$  Impulsen berechnete Verschleppung lag in allen Fällen unter der vom Hersteller angegebenen Spezifikation von  $< 0,5\%$ .

Tabelle 3: Verschleppungskorrektur für BSC FC (Untersuchung 1998) und BSC 8000 (Untersuchung 1991)

Impulsklassen	BSC FC	BSC 8000
< 1.000	keine	keine
1.000-10.000	0,14%	0,19%
> 10.000	0,25%	0,27%

## Umrechnung für Bactoscan FC

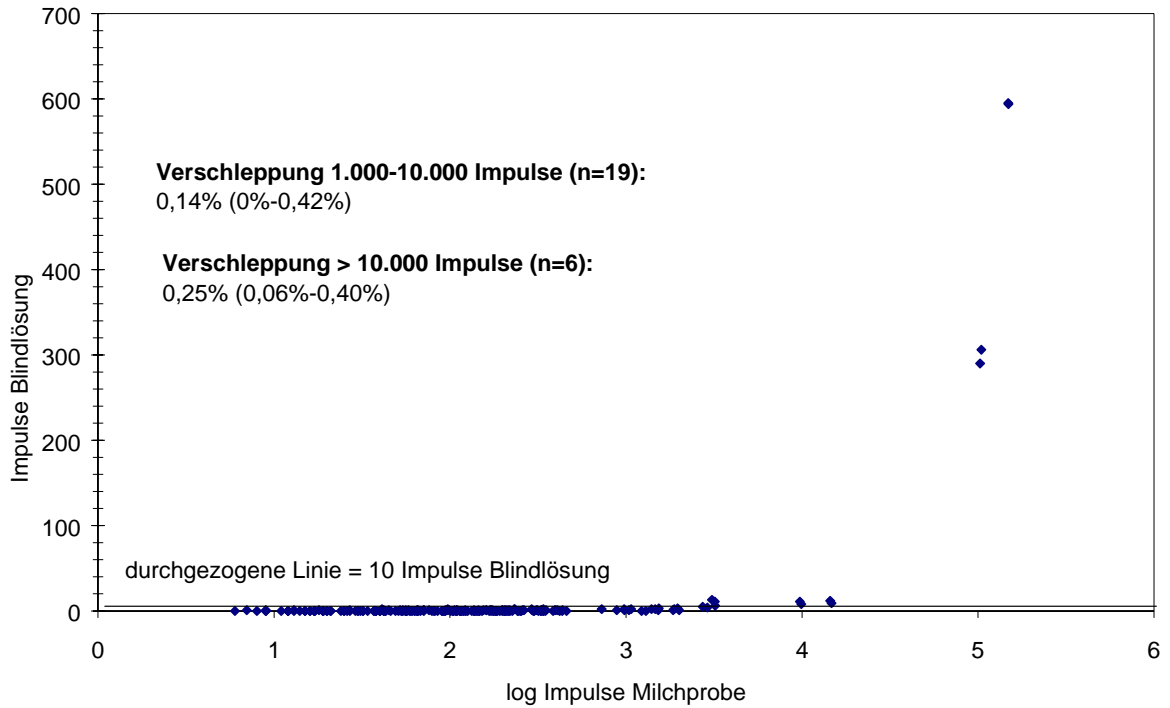


Abbildung 7: Verschleppung BSC FC (n=225)

### 3.3 Wiederholbarkeit

Zur Bestimmung der Wiederholbarkeit des BSC FC wurden 109 Milchproben verschleppungsfrei in Doppelbestimmung gemessen. Nach Entfernung eines Ausreißers wurde eine Wiederholstandardabweichung von  $s_r=0,048$  bzw. eine Wiederholbarkeit von  $r=0,137$  ermittelt. Die Ergebnisse werden in Tabelle 4 mit der Wiederholbarkeit des BSC 8000 und der Plattenkeimzahl (SPC) verglichen.

Tabelle 4: Wiederholbarkeit von BSC FC, BSC 8000 und SPC

Methode	Niveau	Anzahl	$s_r$ <sup>1</sup>	r
BSC FC	< 100	49	0,060	0,170
	100 – 10.000	59	0,036	0,102
	Gesamt	108	0,048	0,137
BSC 8000 <sup>2</sup>	< 100	41	0,066	0,186
	100 – 10.000	138	0,028	0,079
	Gesamt	179	0,040	0,113
SPC	< 100	158	0,101	0,285
	100 – 300	31	0,041	0,117
	Gesamt	189	0,094	0,265

Die Tabelle zeigt, dass sowohl die Impulszahlen als auch die Koloniezahlen nach log-Transformation vom Keimniveau abhängig sind. Die Koloniezählung weist gegenüber den beiden Bactoscan Versionen die geringste Präzision auf. Bei der Plattenzählung wurden nur Proben mit über 10 Kolonien berücksichtigt. Beim Vorliegen von maximal 10 Kolonien wurde eine Wiederholstandardabweichung von  $s_r=0,214$  und eine Wiederholbarkeit von  $r=0,605$  ( $n=78$ ) ermittelt. Die Wiederholbarkeit ( $r$ ) bei BSC FC, BSC 8000 bzw. SPC/ml beträgt 0,14, 0,11 bzw. 0,27 log Einheiten. SUHREN und WALTE (1998) stellten etwas günstigere Präzisionsparameter fest. Für BSC FC, BSC 8000 bzw. SPC/ml ermittelten sie eine Wiederholbarkeit von  $r=0,11$ , 0,15 bzw. 0,14 log Einheiten.

---

<sup>1</sup> BSC FC, BSC 8000: log Impulse; SPC: log Koloniezahl ab über 10 Kolonien

<sup>2</sup> Untersuchung 1991

### 3.4 Beziehung BSC FC zu BSC 8000

Nach Verschleppungskorrektur und  $\log_{10}$  Transformation der Daten wurde die Regressionsanalyse durchgeführt. Abbildung 8 zeigt, dass zwischen beiden Verfahren eine lineare Beziehung besteht. Die Regressionsdaten decken sich mit den Untersuchungen von SUHREN und WALTE (1998) und LANDGRAF (1998). Lediglich die Regressionsgleichung, die bei BAUMGARTNER und ELLNER (1999) angegeben ist, weicht etwas stärker von den anderen ab (Tabellen 5 und 6). Die BSC FC-Impulswerte liegen ab etwa 100 Impulsen höher als die BSC 8000-Werte.

In der Regressionsanalyse wurde eine residuale Standardabweichung von  $s_{yx}=0,209$  festgestellt. SUHREN und WALTE (1998) geben als residuale Standardabweichung  $s_{yx}=0,111$  log an, nach HÜFNER (1998) beträgt diese 0,13-0,14 log.

Tabelle 5: Regressionsgleichungen aus der Literatur ( $x=\log$  BSC FC,  $y=\log$  BSC 8000) im Vergleich zur vorliegenden Untersuchung

---

Referenz	$y = a + bx$
Vorliegende Arbeit	$y = 0,146 + 0,916x$
SUHREN & WALTE (1998)	$y = 0,173 + 0,920x$
LANDGRAF (1998)	$y = 0,159 + 0,919x$
BAUMGARTNER & ELLNER(1999)	$y = 0,162 + 0,896x$

---



## Umrechnung für Bactoscan FC

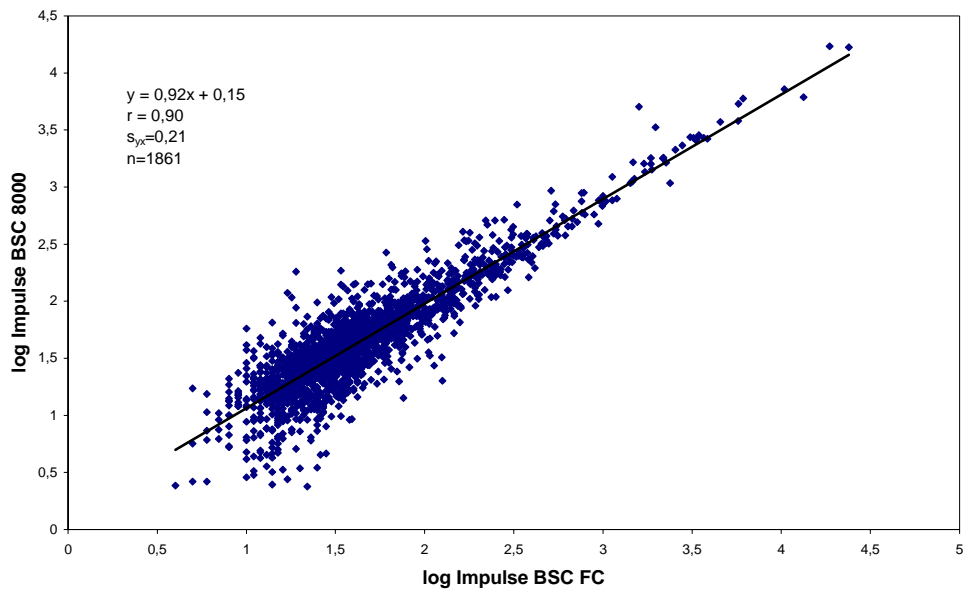


Abbildung 8: Beziehung zwischen BSC FC und BSC 8000

Tabelle 6: Aus der Regressionsgleichung berechnete BSC 8000 Werte im Vergleich zur Literatur

BSC FC	Berechnete BSC 8000 Impulse			
	Vorl. Arbeit	SURHEN & WALTE	LANDGRAF	BAUMGARTNER
10	12	12	12	11
50	51	54	53	48
100	98	103	99	90
200	185	195	188	167
500	430	453	436	380
1.000	818	857	824	708
2.000	1.538	1.622	1.558	1.317
3.000	2.233	2.355	2.262	1.895

### 3.5 Beziehung zwischen BSC FC Impulsen und Plattenkeimzahlen

Die Abbildung 9 zeigt die Beziehung zwischen BSC FC-Impulsen und Plattenkeimzahlen. Aus dieser Abbildung ist ersichtlich, dass die Beziehung zwischen beiden Methoden eher durch ein Polynom zweiten Grades als durch eine lineare Regression beschrieben werden kann. In der Tabelle 7 sind die Keimzahlvergleichswerte der beiden mathematischen Modelle mit den Ergebnissen von SUHREN et al. (1999) verglichen. Die Autoren ermittelten eine lineare Beziehung mit einer Regressionsgleichung von  $\log \text{SPC} = 0,923 \log \text{BSC FC} + 2,767$ .

Tabelle 7: Aus der Regressionsgleichung berechnete Keimzahlvergleichswerte im Vergleich zur Literatur

---

Keimzahlvergleichswerte – KbE/ml in Tausend			
BSC FC Impulse	Polynom 2. Grades	Lineare Regression	SUHREN et al. (1999) <sup>3</sup>
10	7	8	5
30	21	20	14
50	33	31	22
100	59	54	41
200	102	96	78
400	165	169	147
600	215	236	214
1000	291	358	344
2000	420	632	651

---

---

<sup>3</sup> Lineare Regression

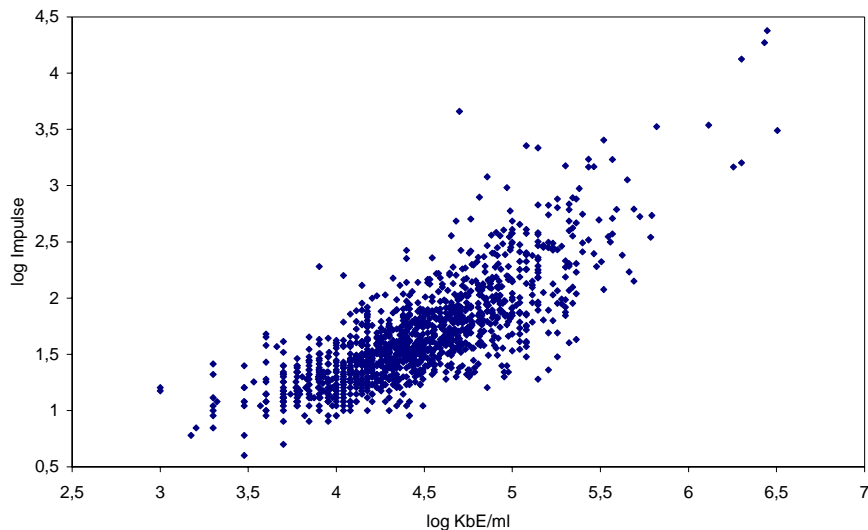


Abbildung 9: Beziehung zwischen Plattenkeimzahl und BSC FC Impulsen (n=1323)

Aus der Abbildung 9 ist ersichtlich, dass im oberen Keimzahlbereich verhältnismäßig mehr Impulse gezählt werden als im niedrigen Keimzahlbereich. Die Ursache dafür kann in der Herkunft und Keimverteilung der Milchproben liegen. Die Impulshöhenanalyse zeigt, dass die Impulse mit höheren BSC-Keimzahlen öfters eine Normalverteilung oder eine angenäherte Normalverteilung aufweisen als Impulse mit niedrigeren BSC-Keimzahlen (Tabelle 8). Bei einer Mischflora in der Milch weist die Impulshöhenanalyse ein in Abbildung 10 dargestelltes Aussehen auf. Im Gegensatz dazu sind in der Abbildung 11 normalverteilte Impulshöhen erkennbar. Dies lässt den Schluss zu, dass in der Milchprobe eine Bakterienreinkultur vorliegt (vgl. auch Abb. 5 und 6). In länger kühlgelagerter Milch überwiegen psychrotrophe Keime wie Pseudomonaden. Aufgrund der Tendenz zur Klumpenbildung werden diese Keime bei der kulturellen Keimzahlbestimmung nur ungenügend erfasst. Die Ergebnisse aus der Impulshöhenanalyse lassen somit den Schluss zu, dass im oberen Keimzahlbereich die Plattenkeimzahl stärker unterschätzt wird als im niedrigen Bereich. Aus Tabelle 9 ist auch erkennbar, dass die Steigung der Regressionsgerade bis zu einem Impulsbereich von 100 – 200 BSC Impulsen annähernd 1 beträgt, während es oberhalb dieses Bereiches zu einer Verflachung kommt. Eine weitere Ursache für die Unterschiede zwischen dem kulturellen Verfahren und dem BSC FC kann darin liegen, dass geschädigte Zellen sich nicht zu Kolonien entwickeln, im BSC FC jedoch miterfasst werden.

Tabelle 8: Abhängigkeit des Anteils normalverteilter bzw. angenähert normalverteilter Impulse in Milchproben vom Impulsniveau

Impulsniveau	Anzahl Proben	Anteil normalverteilter Impulse (Prozent)
$\leq 100$	1082	0
101 - 200	123	12
201 - 300	45	38
301 - 500	34	61
501 – 1.000	20	80
$> 1.000$	19	95
Gesamt	1323	7

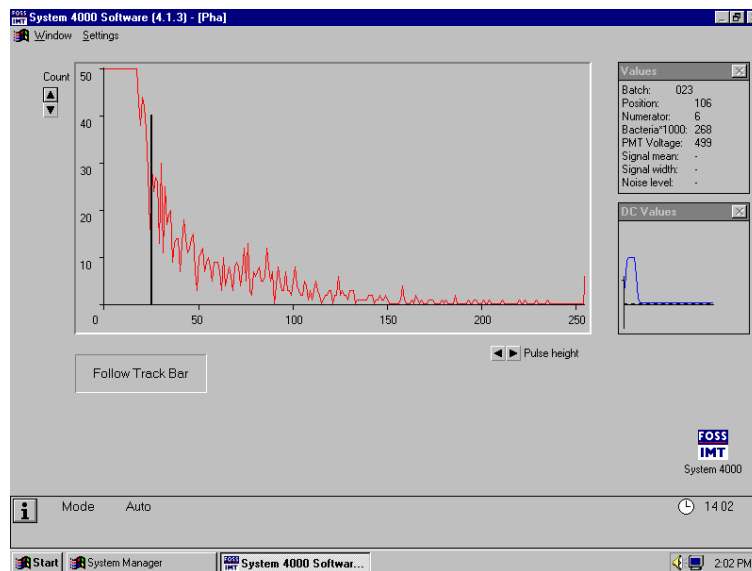


Abbildung 10: Impulshöhenanalyse Milchprobe 1 (268 BSC FC Impulse)

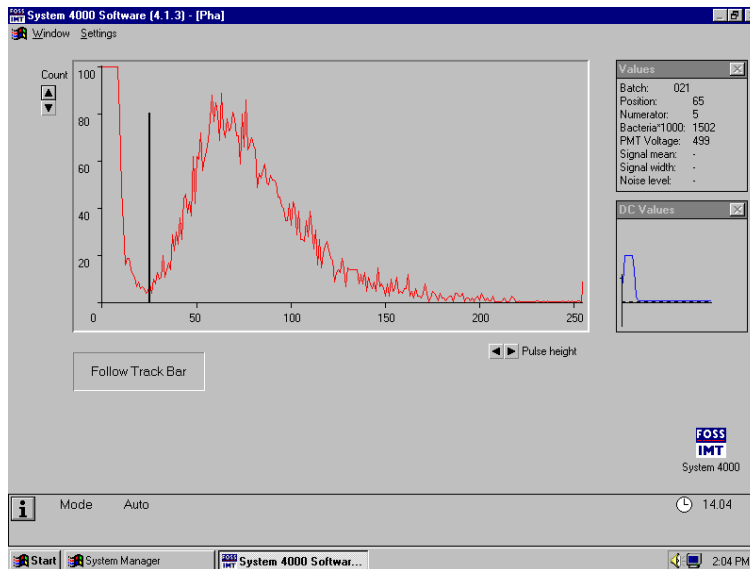


Abbildung 11: Impulshöhenanalyse Milchprobe 2 (1502 BSC FC Impulse)

Tabelle 9: Abhängigkeit der Regressionsgerade vom Impulsniveau  
 (x = log Impulse BSC FC, y = log SPC/ml);  
 $s_{yx}$  = residuale Standardabweichung; r = Korrelationskoeffizient

Impulsniveau	Anzahl	Regressionsgleichung	$s_{yx}$	r
≤ 100	1082	Y=1,003x+2,827	0,280	0,679
≤ 200	1205	Y=0,931x+2,928	0,284	0,714
101-10.000 <sup>a</sup>	237	Y=0,666x+3,439	0,302	0,592
201-10.000 <sup>a</sup>	114	Y=0,629x+3,544	0,301	0,534
Gesamt	1323	Y=0,819x+3,096	0,291	0,787

<sup>a</sup> nach Entfernung eines Ausreißers

**3.6 Matrixleerwert und Differenzierung im Keimzahlbereich von < 10.000 KbE/ml**

Zur Abschätzung des Matrixleerwertes (=Milchprobe mit einer Keimzahl von unter 1.000 kbE/ml) wurden 2 frisch ermolkene Bestandmilchen zentrifugiert und nach Konservierung in Doppelbestimmung im BSC FC gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

Tabelle 10: KbE/ml und BSC Impulse zweier Milchen zur Abschätzung des Matrixleerwertes

Milch	KbE/ml vor Zentrifugation	KbE/ml nach Zentrifugation	BSC FC Impulse nach Zentrifugation (Einzelwerte)
Milch 1	7.300	280	5 / 4
Milch 2	4.100	310	3 / 1

Aus den Ergebnissen ergibt sich ein Matrixleerwert von 7 BSC FC Impulsen (Mittelwert + 2fache Standardabweichung). SUHREN und WALTE (1998) ermittelten bei der Untersuchung von 82 Proben ebenfalls einen Matrixleerwert von 7 BSC FC Impulsen sowie von 20 BSC 8000 Impulsen. Unter Berücksichtigung der Regressionsgleichungen in Tabelle 9 ergibt sich daher eine Nachweisgrenze von etwa 5.000 KbE/ml.

### 3.7 Einfluss der Zellzahl auf die BSC FC Impulse

Abbildung 12 zeigt die Beziehung zwischen den Zellgehalten und den BSC FC Impulsen bei den Anlieferungsmilchproben. Aus der Korrelationsanalyse ergibt sich mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r=0,22$  ein von 0 statistisch signifikanter Unterschied ( $p<0,001$ ). Bei einem Vergleich der Zellzahl mit der Plattenkeimzahl ergibt sich allerdings ebenfalls ein von 0 signifikanter Unterschied ( $r=0,22$ ,  $n=700$ ). Daraus kann geschlossen werden, dass bei den vorliegenden Zellzahlen – nur 3 Proben weisen Zellzahlen von über einer Million/ml auf – der Gehalt an somatischen Zellen das Zählergebnis im BSC FC nicht beeinflusst und der festgestellte Zusammenhang zwischen Zellzahl und BSC FC Impulsen auf andere Ursachen zurückzuführen ist. Dies bestätigt

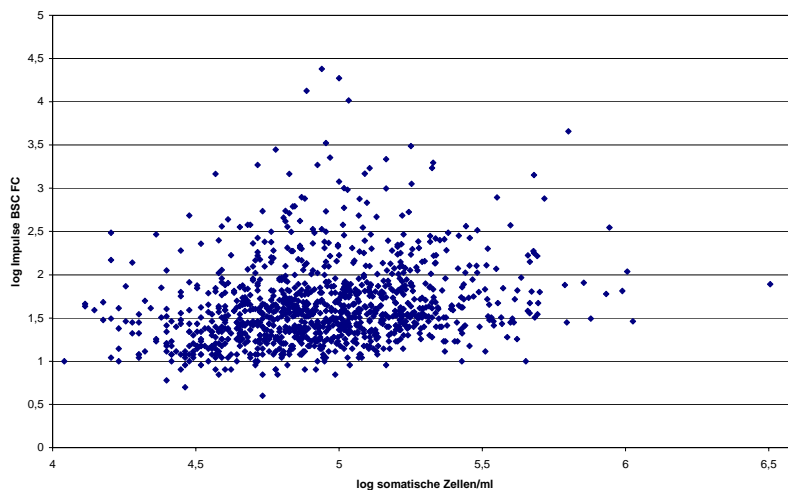


Abbildung 12: Beziehung zwischen dem Gehalt an somatischen Zellen und den BSC FC Impulsen ( $n=1087$ ;  $r=0,22$ )

die Ergebnisse von SUHREN und WALTE (1998), die mittels Viertelgemelksproben ( $SPC < 100/ml$ ) erst ab 1 Million somatischen Zellen/ml einen deutlichen Einfluss auf den Matrixleerwert feststellen konnten.

### **3.8 Vergleich der Keimzahlergebnisse von BSC FC, BSC 8000 und SPC/ml**

Zur Zeit sind in Österreich zwei BSC FC Geräte im Einsatz. Die BSC FC Impulse werden mittels Regressionsgerade in BSC 8000 Impulse umgerechnet. Von diesen erfolgt eine Konvertierung in Keimzahlvergleichswerte/ml anhand einer im Jahre 1994 erstellten Umrechnungskurve. Diese Umrechnungskurve wurde auf der Basis einer 1991 ermittelten Mittelwertkurve erstellt, bei der nach log-Transformation der verschleppungskorrigierten Daten die Plattenkeimzahlen in 0,2 log Stufen zusammengefasst und die jeweiligen Gruppenmittelwerte gebildet wurden. Den Mittelwerten der Plattenkeimzahlen wurden die entsprechenden Mittelwerte der BSC-Zählwerte zugeordnet. Die offizielle Umrechnungskurve berücksichtigt zudem die Streuung zwischen beiden Verfahren, um eine ungerechte Beurteilung der Lieferantenmilchen zu verhindern. In Tabelle 11 sind Regressionsgleichungen im Vergleich zu den früher erstellten Polynomen 2. Grades zusammengefasst.

Tabelle 11: Zusammenfassung der Regressionsgleichungen

Umrechnung (bezogen auf log-Einheiten)	Regressionsgleichung
Umrechnung BSC FC in BSC 8000	$BSC\ 8000 = 0,913\ BSC\ FC + 0,146$
Offizielle Umrechnung BSC 8000 / 1994	$KbE/ml = -0,095\ (BSC\ 8000)^2 + 1,575\ BSC\ 8000 + 1,731$
Mittelwertkurve BSC 8000 / 1991	$KbE/ml = -0,107\ (BSC\ 8000)^2 + 1,623\ BSC\ 8000 + 1,939$
BSC 8000 – Regression 1998/99	$KbE/ml = 0,738\ BSC\ 8000 + 3,244$
BSC FC – Regression 1998/99	$KbE/ml = 0,819\ BSC\ FC + 3,096$

In der Tabelle 12 sind die Impulszahlen angegeben, die einem Keimzahlvergleichswert von 100.000 KbE/ml entsprechen. Für das BSC 8000 wurden für diese Grenze 240 Impulse ermittelt. Bei SUHREN und WALTE (1998) liegt der entsprechende Wert bei 278 Impulsen. Tabelle 13 zeigt die Einstufung in Keimzahlklassen von BSC 8000 und BSC FC im Vergleich zur Plattenkeimzahl. Daraus ist ersichtlich, dass ab 50.000 KbE/ml etwa gleich viele Proben mit dem BSC FC, dem BSC 8000 und mit der kulturellen Keimzählung in die gleiche Keimzahlklasse eingestuft werden. Mit der offiziellen Umrechnung werden im Vergleich zur Plattenkeimzahl im Bereich unter 20.000 KbE/ml deutlich mehr Milchen in diese Keimzahlklassen eingestuft.



## Umrechnung für Bactoscan FC

Tabelle 12: Impulszahlen, die einem Keimzahlvergleichswert von 100.000 KbE/ml entsprechen

BSC FC Regression 1998/99	BSC 8000 Regression 1998/99	Mittelwertkurve 1991	Offizielle Umrechnung 1994
263	240	161	271

Tabelle 13: Einstufung in Keimzahlklassen – Anzahl der Milchproben

Klasse KbE/ml x 1.000	Offizielle Umrechnung		Regression 1998/99		
	BSC FC	BSC 8000	BSC FC	BSC 8000	SPC
≤ 20	856	843	429	382	467
≤ 50	1.065	1.048	949	958	856
≤ 100	1.137	1.128	1.093	1.115	1.060
≤ 500	1.193	1.191	1.192	1.197	1.194
≤ 1.000	1.201	1.197	1.201	1.202	1.198
> 1.000	4	8	4	3	7

### 4 Zusammenfassung

Im Jahre 1998 und 1999 wurden ca. 2.400 Milchproben mit dem BSC FC und dem BSC 8000 untersucht. Von 1.395 Proben wurde zusätzlich die Plattenkeimzahl ermittelt. Ca. 20% stammten aus eintägiger Abholung, 80% aus zweitägiger Abholung. Die Verschleppung beträgt ab 1.000 Impulsen 0,14%, ab 10.000 Impulsen 0,25%. Die Wiederholbarkeit  $r$  ist abhängig vom Impulsniveau und liegt bei durchschnittlich 0,14 log Impulsen. Zwischen den BSC FC und BSC 8000 Impulsen besteht eine lineare Beziehung und kann mit der Regressionsgleichung  $\log \text{BSC 8000} = \log 0,916 \text{ BSC FC} + 0,146$  beschrieben werden. Die Beziehung von BSC FC Impulsen ist dagegen nicht linear und vom Keimniveau abhängig. Über dem gesamten Keimzahlbereich wurde eine Regressionsgleichung von  $\log \text{SPC/ml} = 0,819 \log \text{BSC FC} + 3,096$  ermittelt. Der Korrelationskoeffizient  $r$  beträgt 0,787, die residuale Standardabweichung  $s_{yx} = 0,291$ . Die Messuntergrenze liegt bei etwa 5.000 Kbe/ml. Bei unter 1 Million somatischen Zellen/ml ist kein Einfluss auf die BSC FC Impulse zu erwarten.

## 5 Literatur

BAUMGARTNER, CH., ELLNER, R. (1999): Hygienische Bewertung der Milch. Zum Vergleich von koloniebildenden Einheiten nach KOCH (kbE) und Bactoscan-Zählwerten (individual bacteria counts – IBC). dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 120, 136-142.

HÜFNER, J. (1998): Gerätevergleich BactoScan 8000 / BactoScan FC. Bericht vom 10.06.98.

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND (1991): Milk and milk products - Colony count technique at 30°C. IDF Standard 100B:1991.

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND (1994): Quality control in the microbiological laboratory - Analyst performance assessment for colony count. IDF Standard 169:1994.

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND (1995): Milk - quantitative determination of bacteriological quality - Guidance on evaluation of routine methods. IDF Standard 161A:1995.

INTERNATIONALER MILCHWIRTSCHAFTSVERBAND (1996): Milk and milk products -Preparation of samples and dilutions for microbiological examination. IDF Standard 122C:1996.

LANDGRAF, A. (1998): Analytik für die Keimzahlkontrolle - neue Gerätegeneration FC im Test. Teil 1. dmz 119 (18) 888-891.

SUHREN, G., WALTE, H.-G. (1998): First experiences with automatic cytometric determination of total bacterial count in raw milk. Kiel. Milchw. Forsch. Berichte 50 (3) 249-275.

SUHREN, G., WALTE, H.-G., REICHMUTH, J. (1999): Bakteriologische Rohmilchqualität. Automatisierte Durchflusszytometrie auf dem Wege zur Einführung. dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 120, 1052-1059.