



LA NOSTRA
ESPERIENZA,
LA VOSTRA
SICUREZZA.

IMPULSI vs UFC
breve storia di una lunga sfida



Impulsi vs Unità Formanti Colonia

ovvero

*per tutti i problemi complessi esiste una soluzione semplice,
quella sbagliata*



I primi dubbi senza risposte



Bactoscan Serie 1 : cosa contava davvero?

Quanto costava davvero l'analisi

Precisione, accuratezza ?

La conversione era ancora di là da venire

Erano i tempi del metodo R.S. Breed Determination of the number of bacteria in milk by direct microscopic examination – 1911 !!!



Sample capacity	Approx. 70 per hour
Analysis time	7 minutes
Measuring range	$10^5 - 10^7$ bacteria/ml
Repeatability (Sd)	15% (typically)
Correlation to plate count	Approx. 0.9
Transfer error	≈ 0.3% relative
Sample size	5 ml
Sample temperature	38 - 42°C



Dalla preistoria alla storia



Il Bactoscan 8000

Rapidità, Ripetibilità, Uniformità, Economicità

Il nostro «collaudo» ed i primi dubbi scientifici

Il ritiro del latte «caldo» i lattobacilli e il PCA

e come costruire la conversione



Il Petri-Foss è un sistema interamente automatico destinato alla preparazione delle piastre per la qualità igienica del latte crudo.

Erano i tempi del FIL-IDF 100:1981 e del Metodo di Thompson di Standards Methods dichiarato con 40 % di ripetibilità!!



Il BactoScan dà risultati più precisi ed uniformi dei metodi tradizionali.



F. Kaereby – Bactoscan 8000 made for EEC regulated bacteria control of raw milk-
Int. Congress on Rapid Methods and
Automation in Microbiology and
Immunology – Helsinki – June 1990

ABSTRACT

The development of BactoScan 8000 was initiated because the EEC decided that a grading limit equal to 100,000 CFU/ml should be applied by all member states from 1.1.1993.

The purpose of the work presented here is to evaluate the accuracy and precision of the BactoScan 8000 at levels below 100,000 CFU/ml in relation to the Standard Plate Count and the Petri-Foss method. The materials were authentic data originating from independent laboratories, and the statistical method applied was presented by the author at the International Seminar on Modern Microbiological Methods in 1989, published in the International Dairy Federation-Special Issue No 8901 (1989).

Typical results for the performance of the BactoScan 8000 were
Limit of Determination = 30,000 CFU/ml.
Standard Deviation of the Estimate: Less than 0.400 log CFU/ml.
Standard Deviation of Repeatability: Less than 0.057 log CFU/ml.

Conclusion: BactoScan 8000 is in close agreement with the Standard Plate Count method at levels greater than or equal to 30,000 CFU/ml and even better than the Standard Plate Count method with respect to linearity.

ACKNOWLEDGEMENTS:

I want to thank professor Heeschen, director Heiss, dr. Boni and dr. Grappin for giving me access to the authentic data. A special thank to dr. Suhren for her painstaking evaluation of every modification of the Bactoscan instrument during the experimental stage.

ADDRESS:

Flemming Kaereby, Foss Electric, 69-Slangerupgade, DK-3400 Hilleroed, Denmark



La civiltà classica



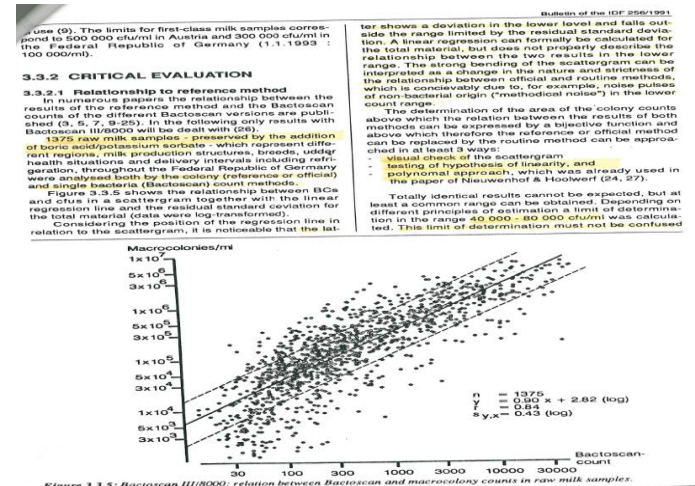
La conversione «spezzata» :
Interpolazione per approssimare una curva
(limiti del software strumentale)

Il conteggio dei batteri morti e le polemiche (sterili?)
con i microbiologi tradizionali

Quali batteri crescono nel PCA ?

Come si separano i batteri aggregati nel PCA?

L'uso del conservante (batteriostatico/battericida)



Erano i tempi del FIL-IDF
256:1991 con Bactoscan
Technique di G. Shuren, J.
Reichmuth e W. Heeschen



L'impero unione delle differenze



Come , quando, per quanto tempo i batteri formano una colonia ? In quanti formano una colonia ?

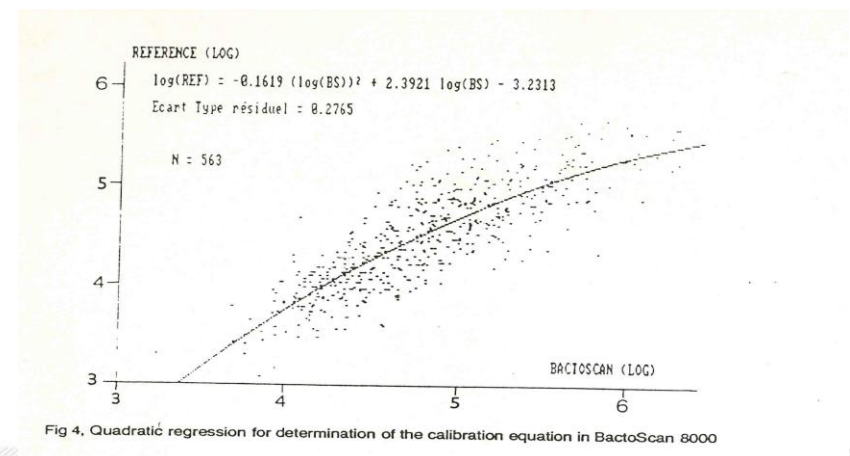
Le variabili sono talmente tante (e insondabili) che soltanto un «dittatore» può stabilire le regole

la conversione lineare (Grappin)



$$\log(\text{REF}) = -0.1618 * (\log(\text{BS}))^2 + 2.3921 * \log(\text{BS}) - 3.2313$$

with a residual standard deviation $S_{y,x}$ equal to 0.2765 log CFU/ml.





Barbari e civiltà



Il «conteggio dei Germi a 30 °C» e la Carica Batterica Totale del latte

microbiologi contro «lattologi»
(*la scienza, la Norma, il bilancio costo-beneficio*)

I pragmatici tedeschi fanno la scelta più ovvia, in Italia si utilizzano 3-4 conversioni diverse
(poi moltiplicatesi ulteriormente)





Il rinascimento Rinnovamento e un po' di speranza



BACTOSCAN FC

La prima Conversione «ufficiale»
G. Shuren e le prime ipotesi sui tanti
fattori che la possono condizionare

Inutile illudersi , meglio
standardizzare gli errori

Quali batteri e in che stato sono
rispetto alla formaione di una
colonia in uno specifico terreno a
specifiche condizioni di incubazione
in ogni singolo campione di latte ?





Il nuovo mondo



BACTOSCAN FC (Foss) BACTOCOUNT (Bentley)

Conversione «Brescia»

UTILITA' DEI RING TEST AIA

LA CONVERSIONE GEOGRAFICA e ISO
(secondo me la terra è piatta!)



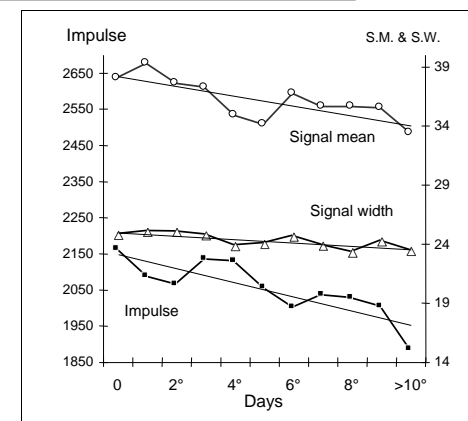
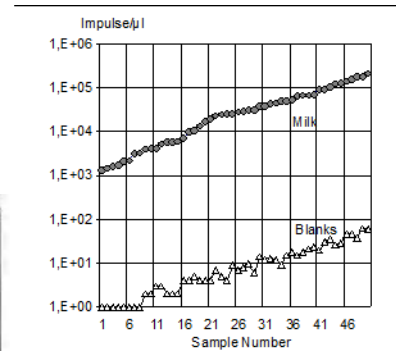
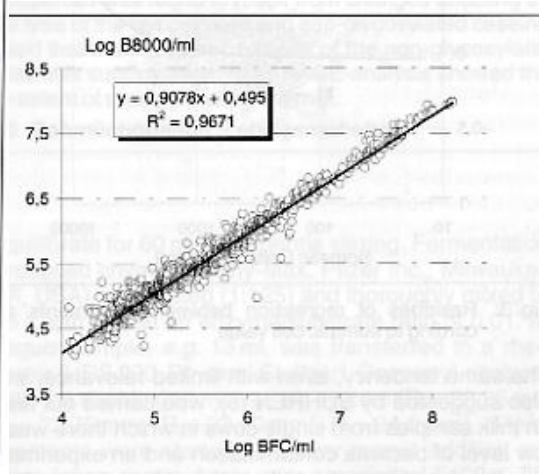
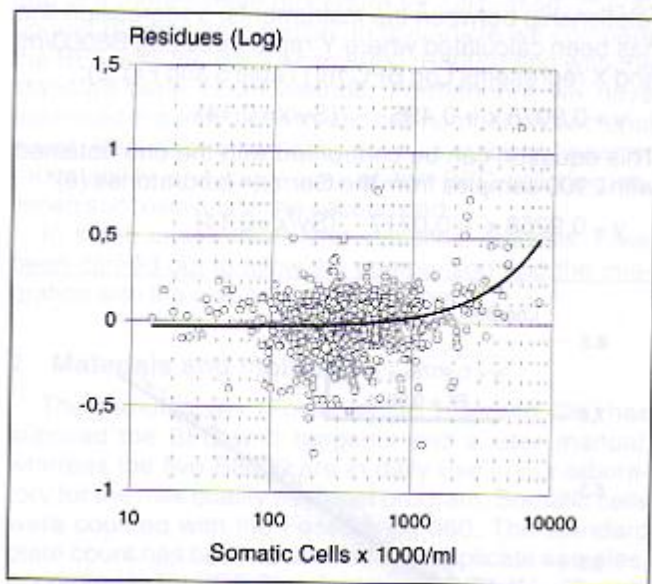


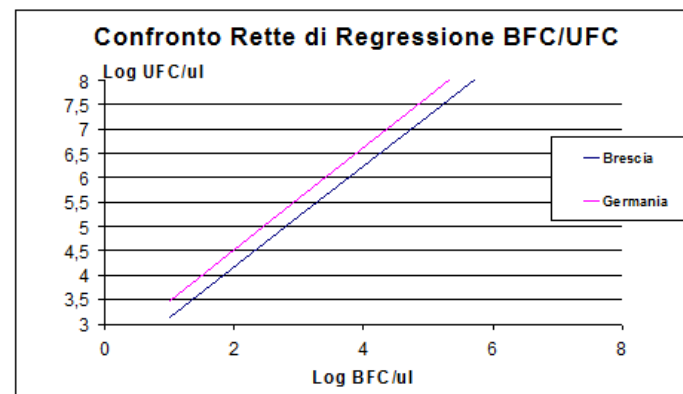
Fig. 2: Residues of regression between

Bolzoni G., Marcolini A., Varisco G. ,2000 Evaluation of the Bactoscan FC. 1. Accuracy, comparison with Bactoscan 8000 and somatic cells effect. Milchwissenschaft- M.S.Int., (2), Februar 2000, 67-70

Bolzoni G., Marcolini A., Varisco G. ,2001 Evaluation of Bactoscan FC. Second Part: Stability, Linearity, Repetability and Carry-over. Milchwissenschaft- M. S. Int., (56), n° 6 June, p. 318-321

Bolzoni G, Marcolini A. , 2001

Bactoscan FC: prestazioni e utilizzo a fianco del Bactoscan 8000 Il Latte, 26 (10), p. 136-14





Battaglie sempre più spietate



Norme ISO (derivazione da metodi chimici)

Accreditamento e Sistemi Qualità
(la Conversione appare come un mutante)

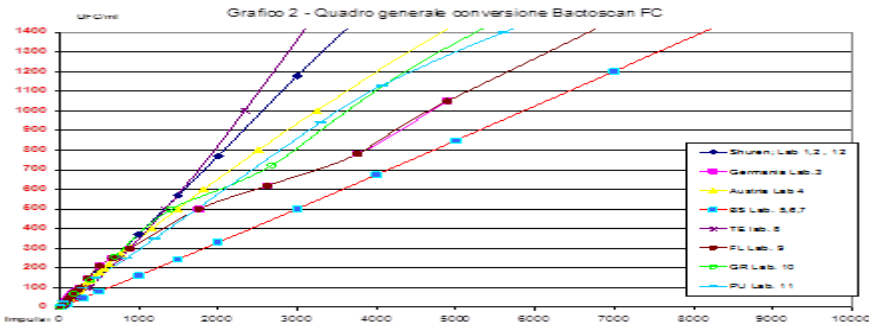
REG CE e Media Geometrica (aggiungiamo un ulteriore
differenziazione con le modalità di conteggio)

Autocontrollo e Lab. Privati
(costo degli strumenti rispetto al numero di campioni)





La grande guerra

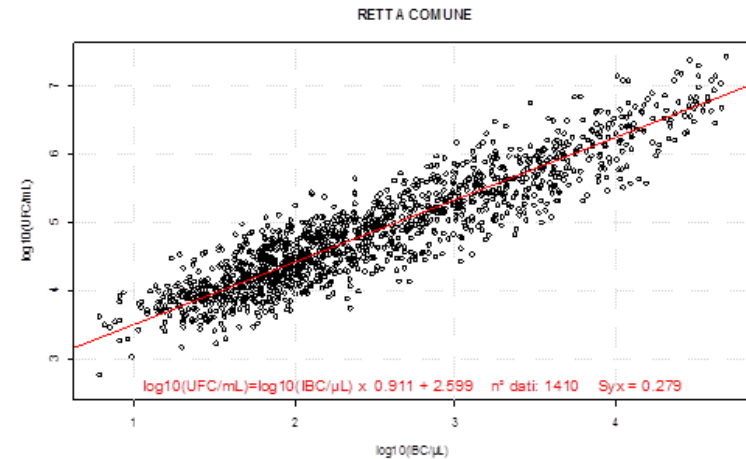


Il progetto «unificazione» del 2008

L'attentato dell'anarchico G. Cascone all' Arciduca

Bolzoni G. , Marcolini A. (2010) -
Bactoscan FC – project for unified conversion line in Italy (S.C.) –
Milk science International (Milchwissenschaft) , 65, 3, 309-310

Bolzoni G, Marcolini A, (2010)
Carica batterica totale nel latte crudo : progetto di unificazione della
conversione dei dati in Italia .
Scienza e Tecnica Lattiero Casearia , 61 (5) ,313-324





Un piccolo passo per un uomo

RETTA UNICA NAZIONALE

Il Ruolo dell' I.S.S.

Accredia e Ministero

Effetti Pratici (vedi risultati AIA prossima pubblicazione)

Un PUNTO DI FORZA :
non abbiamo semplicemente «messo insieme»
coppie di risultati , ma ne abbiamo fatto
un'analisi statisticamente sostenibile e
finalizzata ad un preciso scopo «pratico» che
comprende la valutazione delle differenze
sistemiche (del latte o del laboratorio che
esegue il metodo di riferimento?)

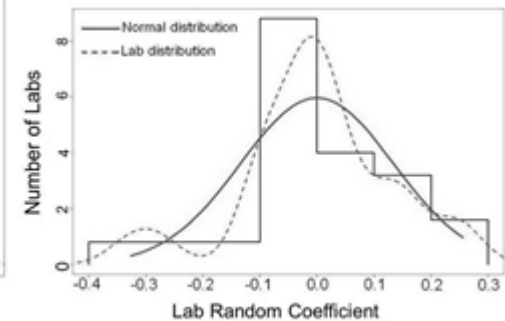
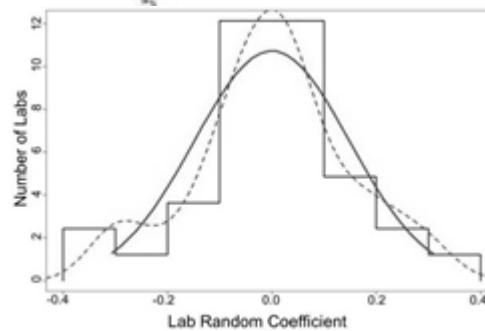
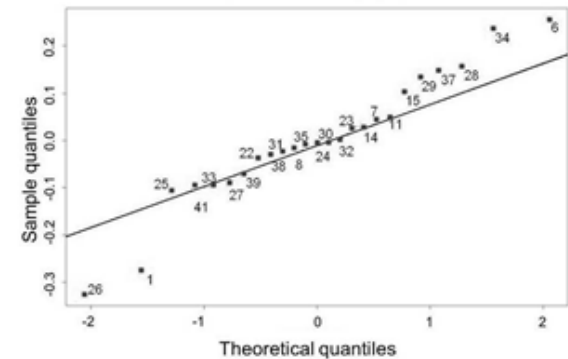
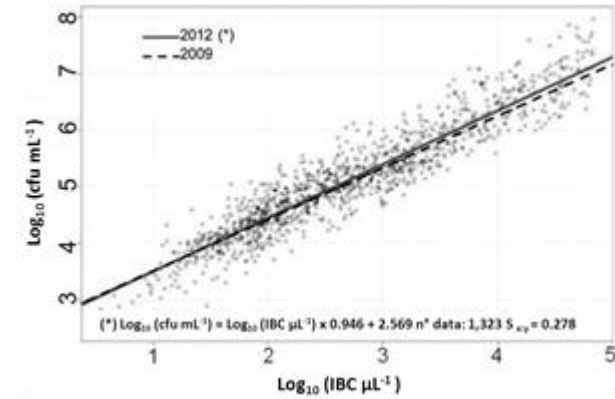
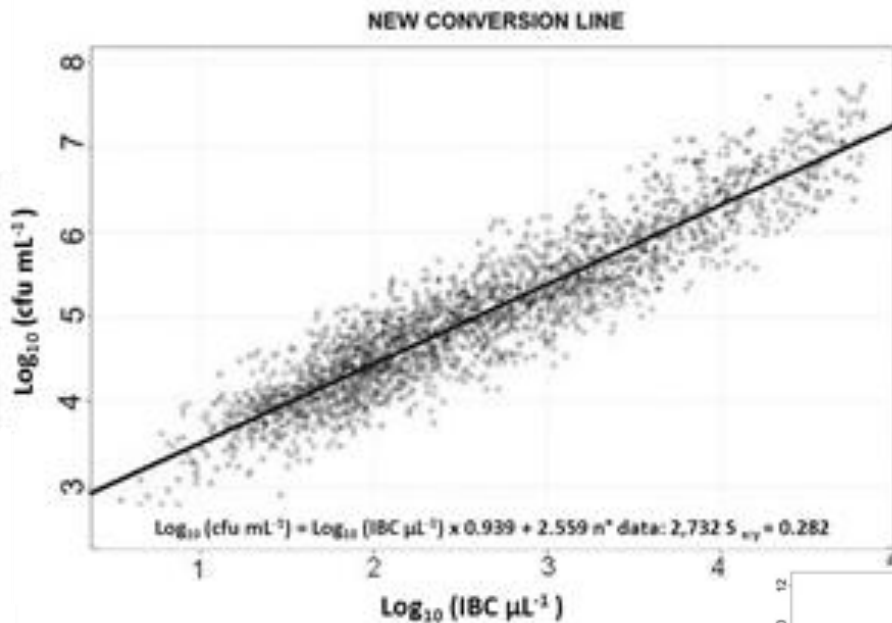




Un piccolo passo per un uomo



G. Bolzoni , A. Marcolini , G. Delle Donne , B. Appicciafuoco and A.M. Ferrini (2015)- New Italian conversion line for the enumeration of total bacteria in raw milk with Bactoscan FC. Italian Journal of food science , n2, Vol 7, 2015,





Anni di Piombo



Il progetto mai nato anche se in realtà è già stato sdoganato
..... «Conversione Comunitaria»

L'approccio del Lab. Com. Ref. e il Working-Group

Esigenze diverse , finalità diverse ma anche
senso pratico vs formalismo

Non ultimo gli effetti di una disputa commerciale

Se un errore grande deve comunque essere commesso..... Perché preoccuparsi degli errori minimi (e non gestibili dal punto di vista pratico ed operativo) meglio sarebbe ridurre/standardizzare quello grande





Ma intanto il tempo passa e le cose cambiano

- Il progetto Ovi-Caprino

E il bufalo ?

E l'asino !

L'esigenza di approfondire l'effetto matrice



*Noi che crediamo ancora la terra sia piatta.....
eravamo (siamo) critici verso le Conversioni Specie-Specifiche*

*Ma oggi, senza connessione h-24, sei un paria e quindi
benvenuto !*

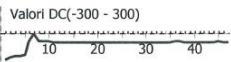


Tra le cose che abbiamo sviluppato

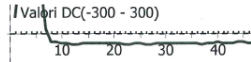
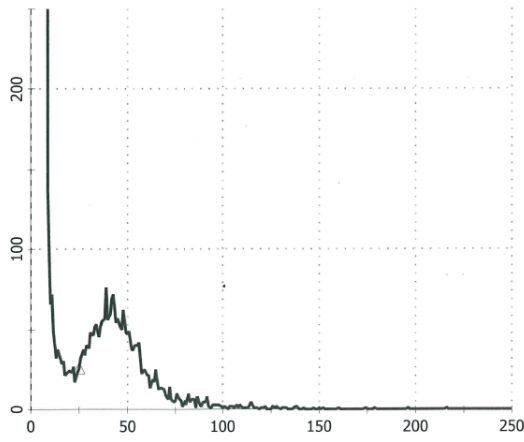


I materiali di riferimento liofilizzati con flora mista

Conta più questo grafico dell'incertezza di misura del certificato!



Batteria: 1000: 804
Discriminatore: 25
Tensione PMT: 589



Batteria: 1000: 807
Discriminatore: 25
Tensione PMT: 570

IO LA 011 A rev. 0 del 27/05/15 – Rep. Produzione Primaria

ISTITUTO ZOOPIROFILATTICO SP. DELLA LOMBARDIA E DELL'EMILIA ROMAGNA
- S. Ubertini - Ente Sanitario di Diritto Pubblico
Via Bianchi 8 - 25124 Brescia (IT)
C.F. - P.IVA 0234840170 N. REA CCIAA DI BRESCIA 888342
Tel: 030 2295541 Fax: 030 2295531 E-mail: cm.qualita@izsler.it

IS DOCUMENTO: STD CST 91120
REV. 1
EMESSO IL: 14/07/2015
PAGINA 1 DI 1

CERTIFICATO DI MATERIALE DI RIFERIMENTO

DENOMINAZIONE DEL MATERIALE DI RIFERIMENTO: Materiale di controllo per la determinazione della carica batterica totale con strumenti optofluorimetrici

DESCRIZIONE DEL MATERIALE DI RIFERIMENTO: latte parzialmente scremato microfiltrato inoculato con flora lattica selezionata e sottoposto a trattamento di liofilizzazione in aliquote singole monouso da 15g

CODICE: STD CST: N° BATCH: 91120

DESTINAZIONE D'USO: taratura di apparecchiature optofluorimetriche per il conteggio della carica batterica con esito analitico espresso in impulsi Bactoscan / microfiltra

ISTRUZIONI D'USO
Ricostituzione:
Aprire il flacone avendo cura di non asportare materiale liofilizzato adeso al tappo di chiusura. Aggiungere 15 ml di acqua demineralizzata batteriologicamente sterile. Attendere 1-2 minuti per garantire l'assorbimento dell'acqua aggiunta. Richiudere il flacone ed agitare vigorosamente fino a completa dissoluzione del liofilizzato. Sottoporre ad analisi entro 30 minuti.

Conservazione:
Conservare al buio in luogo fresco e asciutto (6 ± 4°C). Non congelare. Viene stabilita una scadenza indicativa di quattro anni dalla produzione, sulla base di esperienze pregresse, in condizioni di integrità della capsula e del tappo.

POSSIBILI RISCHI: La flora lattica utilizzata per l'allestimento non rappresenta un rischio per l'utilizzatore.

OMOGENEITÀ: Sono stati analizzati 36 flaconi, 2 repliche per ogni flacone, su 2 apparecchiature. Le risultanze di elaborazione evidenziano una dev.st di omogeneità significativa ma quantitativamente non elevata (circa 2,0%).

PROPRIETÀ E VALORI CERTIFICATI

Parametro analitico	Valore riferimento (1)	Limiti di accettabilità (2)		Metodo di analisi
		Superiore	Inferiore	
Carica batterica totale Impulsi Bactoscan/microfiltra	623 ± 31	749	518	Optofluorimetrico con Bactoscan FC

(1) Il valore di riferimento è assegnato sulla base degli esiti analitici ottenuti su 35 apparecchiature in uso presso 34 laboratori, per un totale di 140 analisi complessive condotte su 70 flaconi del lotto. È riportato il valore di riferimento e l'incertezza estesa ad esso associata (K=2, P=95%), comprensiva dell'incertezza di caratterizzazione derivante dalla prova interlaboratorio e dell'incertezza di omogeneità rappresentativa della variabilità tra flaconi dello stesso lotto.

(2) Sulla base dei parametri di precisione attesi per il metodo di analisi Optofluorimetrico impiegato per la caratterizzazione del materiale, sul livello di 600 CFU/ml, il valore di riferimento di riproduzione indicato dal costruttore, 54 (0,44x10⁹ per 600x10³), una singola determinazione non può essere considerata rappresentativa del valore di riferimento. L'utilizzatore può tuttavia adottare limiti di accettabilità diversi definiti in funzione dei parametri di precisione attesi per il metodo di analisi impiegato.

DATA DI VALIDAZIONE: 19/02/15
DATA SCADENZA: 19/02/2019

Il materiale liofilizzato, in condizioni di integrità della capsula e del tappo, garantisce la stabilità per più anni. Viene stabilita una scadenza indicativa a 4 anni dalla produzione, sulla base di esperienze pregresse. Altre informazioni sono disponibili su richiesta.

LABORATORIO: Dott. Giuseppe Bolzoni
I.Z.S.L.E.R.
Centro Naz. Qualità Latte Bovino



E poi il futuro prossimo



Vivere senza conversione si può.....
Buttiamo via tutto ma RICICLIAMO



Una personalissima proposta



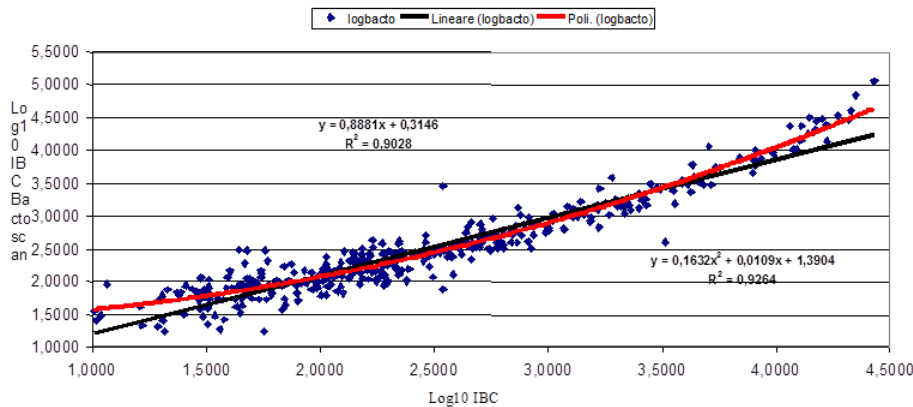
Un lavoro in 3 stadi



1- Confronto strumenti :
valutazione correlazione Impulsi BSC vs BCI
ed eventuale indice di conversione
(un solo Lab, campioni di diversa origine e
composizione)



Graph 5 – polynomial linear regression between IBC BACTO8000 and IBC BENTLEY



Test già eseguito, non pubblicato ,
rispetto a Bactoscan 8000

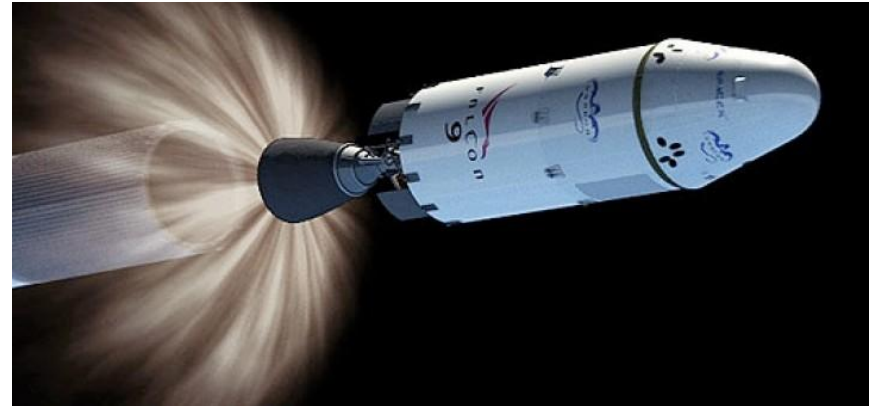


Un lavoro in 3 stadi



2- Confronto Metodo di Riferimento vs Metodo Alternativo

Anche in due soli Lab. ma con latte di diversa origine e composizione (Comunitaria)
Elevata numerosità dei campioni ,
procedimento standardizzato sia per l'analisi che per l'elaborazione statistica
Netta prevalenza di campioni attorno a 100.000 UFC/ml



DEFINIZIONE DI UN UNICO FATTORE UFFICIALE DI EQUIVALENZA RELATIVO AL VALORE DEL LIMITE NORMATIVO PER LA VALUTAZIONE DELLA MEDIA GEOMETRICA

DA EVITARE INVECE : assemblamento di rette di conversione di diversa origine e modalità di produzione statistica !!!!!!!!!!!!!



Un lavoro in 3 stadi

I Laboratori Europei esprimono gli esiti in Impulsi
(con eventuale fattore di correzione x strumento)

Gli esiti analitici vengono utilizzati come tali (Impulsi)
per pagamento qualità, autocontrollo, etc.
(aumenta la «accuratezza del dato»)

LA MEDIA GEOMETRICA CALCOLATA IN IMPULSI VIENE
INVECE CONFRONTATA (</> CONFORME / NON CONFORME)
CON IL FATTORE EQUIVALENTE A 100.000 UFC/ml



per tutti i problemi complessi esiste una soluzione semplice , quella sbagliata



... e finalmente anch'io in pensione

