

The background of the entire page is a blue-tinted, high-magnification microscopic image of various bacterial cells. The cells are mostly rod-shaped (bacilli) and some are spherical (cocci), appearing in various orientations and sizes, creating a dense, textured pattern.

FOSS

Электронная книга

Уменьшение количества бактерий в сыром молоке

Руководство по возможностям
проточной цитометрии

Июнь 2017

ANALYTICS BEYOND MEASURE

Предисловие

На протяжении десятилетий аналитическая технология, называемая проточной цитометрией, играла жизненно важную роль в улучшении гигиенического качества сырого молока, и сегодня ее значение только возрастает. В частности, новые технологические разработки открывают возможность выполнения локальных гигиенических тестов, когда сырое молоко поступает на молокозавод, или даже на ферме.

Перспектива более быстрых тестов по всей цепочке поставки молока закрывает эпоху образцов с плохим гигиеническим качеством, содержащих многие сотни тысяч бактерий на миллилитр.

Цель этой электронной книги – познакомить вас с современными разработками в области проточной цитометрии – статьями, простыми в усвоении техническими подходами и видеоинтервью.

Мы надеемся, что вы найдете ее полезной в свете продолжающихся межотраслевых усилий по снижению содержания бактерий в сыром молоке.

FOSS, Представительство в РФ – ООО "Фосс Электрик"

Содержание

Статья: Борьба с бактериями в молоке	4
Преимущество проточной цитометрии	6
Внутри проточного цитометрического прибора	7
Масштабные измерения количества бактерий в лаборатории	8
Подсчет бактерий одной кнопкой на молокозаводе	9
Что искать в решении проточной цитометрии	11
Решения проточной цитометрии от FOSS	13

Статья:

Борьба с бактериями в молоке

Новая официальная аттестация подсчета бактерий в сыром молоке с помощью проточной цитометрии – это лишь последнее усилие в продолжающейся битве за сокращение количества бактерий в сыром молоке.

Несмотря на то, что образец сырого молока сегодня выглядит так же, как и 50 лет назад, похоже, что количество бактерий будет намного ниже.

Это хорошая новость для потребителей и производителей молочных продуктов – бактериологическое качество молока является важным параметром для процедур термообработки, прогнозирования срока хранения и определения пригодности сырого молока к переработке для изготовления различных продуктов.

На протяжении десятилетий среднее содержание бактерий в сыром молоке постепенно снижалось по всему миру – от сотен тысяч колониеобразующих единиц (КОЕ) на миллилитр в 70-е годы до менее 10 000 КОЕ на миллилитр сегодня. Во многих странах производители устойчиво достигают уровня 5000 КОЕ/мл в своих поставках сырого молока.



Основанные на проточной цитометрии приборы появились в 1980-х годах, и теперь этот метод аттестован как EC-RL в Европе, так и NCIMS/FDA в США.

Тем не менее борьба за снижение содержания бактерий продолжается, и быстрый подсчет количества бактерий в образцах сырого молока с использованием технологии проточной цитометрии как никогда важен и актуален.

Важность измерений с помощью проточной цитометрии

Методы проточной цитометрии были впервые применены для тестирования сырого молока в начале 80-х годов как способ автоматизации и ускорения процесса традиционного анализа.

Традиционный метод дает показатель качества, основанный на колониеобразующих единицах, в то время как в проточной цитометрии тот же показатель основан на количестве отдельных бактериальных клеток и выдается менее, чем за десять минут, по сравнению с двумя-тремя днями, которые требуются при подсчете на чашках Петри.

Быстрые результаты оказались важными, потому что раннее обнаружение нарушений гигиены в сыром молоке необходимо для минимизации воздействия на качество сырого молока. Хотя пастеризация убьет большинство бактерий, их метаболиты могут вызывать неприятные запахи, а ферменты остаются активными, приводя к порче продукта и сокращению срока хранения. Оперативная информация позволяет фермерам узнавать о возможных проблемах и своевременно устранять утечки, недостаточную очистку или охлаждение в системе доения или проблемы со здоровьем в стаде.

Растущее признание

Неудивительно, что проточная цитометрия привлекла интерес лабораторий по тестированию молока как быстрый метод подсчета бактерий, особенно по мере того, как все больше стран ужесточали требования к качеству молока и вступали в силу все более жесткие государственные нормы гигиенического качества.

Однако официальные аттестации запаздывали. Кто-то мог бы подумать, что усовершенствования, ускоряющие анализ содержания бактерий, могут приниматься быстро. Но признание и аттестация – сложный процесс, который продолжается уже около 35 лет.

При участии различных отраслевых и государственных органов многих людей необходимо убедить в сложной природе показателя общего количества бактерий. В частности, необходимость корреляции метода проточной цитометрии, основанного на подсчете отдельных бактерий, с традиционным методом, основанным на подсчете колониеобразующих единиц, вызвала много дискуссий, которые продолжаются до сих пор.

Несмотря на продолжающуюся дискуссию, проточная цитометрия стала промышленным стандартом для подсчета бактерий в сыром молоке во многих странах мира, например, инструмент FOSS BactoScan™ FC+ аттестован как референс-лабораториями ЕС (EURL), так и NCIMS/FDA в США, и сегодня более 90% всего молока в ЕС оплачивается в соответствии с результатами BactoScan.

Дальнейшее развитие – использование проточной цитометрии в компактных инструментах для применения на молокозаводах, чтобы проверять гигиеническое качество поставок, – открывает новую главу в борьбе с бактериями в сыром молоке. [Читать подробнее на странице 9.](#)

Преимущество проточной цитометрии

Выполняя тестирование лишь за несколько минут, проточная цитометрия намного быстрее, чем традиционный метод чашечного подсчета, который требует от двух до трех дней для получения результата.

Эта оперативная доступность результатов тестирования важна для производительности молочной фермы и последующего использования молочного сырья в цепочке поставок. Например, быстрый подсчет клеток бактерий позволяет оперативно выявить гигиенические проблемы на ферме и принять меры для поддержания качества молока, поставляемого на молокозавод.

Молоко с высокой бактериальной загрязненностью является нежелательным сырьем для молочного производства, особенно для таких продуктов, как масло. Хотя пастеризация убивает большинство бактерий, их метаболиты могут вызывать неприятные запахи, а ферменты остаются активными, приводя к порче продукта и сокращению срока хранения. Поэтому большинство схем оплаты молока учитывает уровень содержания бактерий при определении категории молока.

Быстрый рост количества клеток бактерий говорит фермерам о возможных нарушениях гигиены, позволяя им устранять утечки, недостаточную очистку или охлаждение в системе доения или проблемы со здоровьем в стаде.

Проточная цитометрия также отличается высокой воспроизводимостью результатов. На традиционный метод чашечного подсчета влияют переменные, изменяющиеся от теста к тесту, такие как подготовка образца в чашке Петри, длительность инкубационного периода и подсчет невооруженным глазом. Напротив, проточная цитометрия представляет собой автоматический, машинный тест, который отличается точностью, повторяемостью и воспроизводимостью. Образцы сырого молока могут анализироваться непосредственно, без предварительного нагрева или разбавления, которые потенциально влияют на точность.

Превосходная точность благодаря подсчету индивидуальных бактерий

Поскольку метод проточной цитометрии подсчитывает все бактерии как отдельные клетки, а не колонии, он обеспечивает высокую производительность с отличной воспроизводимостью результатов. В отличие от метода чашечного подсчета, оператор не оказывает влияние на результаты, а образцы сырого молока могут анализироваться непосредственно, без предварительного нагрева или разбавления, потенциально влияющих на точность.

Погрешность: Типичная $Sy,x < 0.25 \log$ единиц во всем диапазоне измерения.

Эталонный метод: Стандартный метод подсчета в чашках Петри (IDF Standard 100B: 1991)

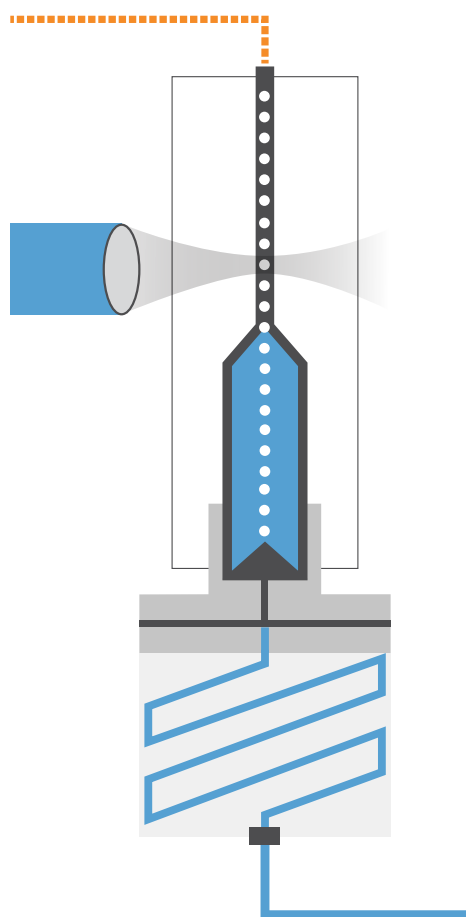
Внутри проточного цитометрического прибора

Флуоресцентная проточная цитометрия используется для анализа физических и химических характеристик частиц в жидкости, проходящей через лазер. В контексте анализа продуктов питания и сельскохозяйственной продукции он обеспечивает быстрый подсчет количества бактерий и соматических клеток в образцах молока.

Метод подсчета бактерий

Для подсчета бактерий требуется начальная стадия инкубации, чтобы окрасить бактерии и разрушить все частицы, за исключением подсчитываемых клеток.

1. В ходе инкубации бактерии окрашиваются флуоресцентным красителем, действующим на конкретные ДНК.
2. С помощью системы прецизионного шприца клетки одна за другой пропускаются через проточную ячейку, где подвергаются воздействию светового луча от лазерного источника.
3. Лазер инициирует флуоресценцию красителя, и окрашенные клетки излучают световой импульс при прохождении через лазерный луч.
4. Флуоресцентное излучение детектируется высокочувствительным детектором, который вырабатывает электронные импульсы.
5. Импульсы подсчитываются и отображаются на диаграмме анализа высоты импульсов на экране инструмента.



С помощью системы шприца клетки одна за другой пропускаются через проточную ячейку, где подвергаются воздействию светового луча от лазерного источника

Подсчет бактерий занимает девять с половиной минут, включая время инкубации.

Масштабные измерения количества бактерий в лаборатории

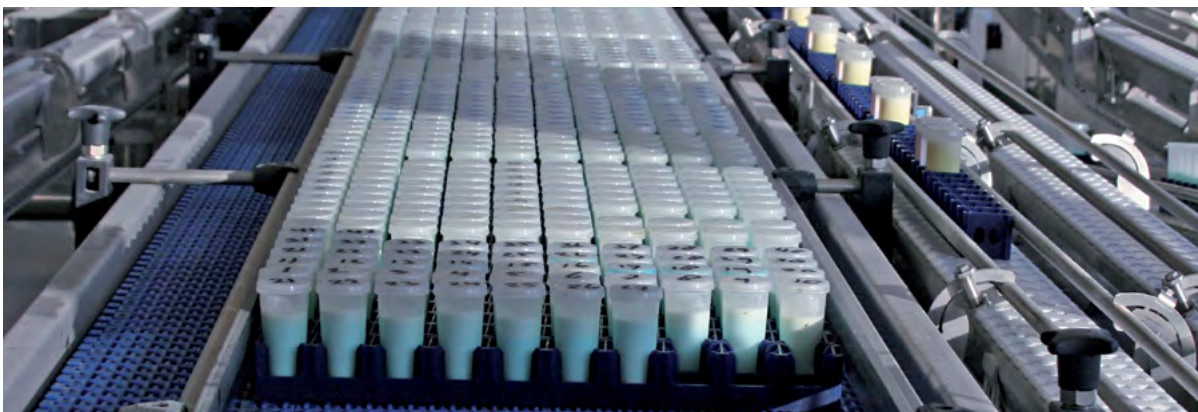
Взгляд на современное оборудование для тестирования сырого молока.

По всей лаборатории конвейерные ленты доставляют образцы молока к аналитическим приборам и от них, и ряды пластиковых емкостей, выстроенных в линию, как солдаты на параде, четко маршируют к ожидающим анализаторам. Радиочастотная идентификация (RFID) позволяет отслеживать образцы, используя интеллектуальную идентификацию на основе запрограммированных микросхем, содержащих все надлежащие данные образца и прикрепленных к нижней части емкости.

Сегодня проточная цитометрия используется лабораториями по тестированию сырого молока во всем мире, ежедневно выполняющими тысячи тестов на количество бактерий на образцах, собранных на молочных фермах. Но как это возможно, если один тест длится девять минут?

Ответ заключается в интеллектуальном выполнении стадии инкубации, отнимающей больше времени, с несколькими инкубационными установками, обрабатывающими нескольких образцов одновременно. Но запросы на тестирование не прекращаются. Обработка, тестирование и отслеживание тысяч образцов также должны выполняться эффективно, и часто подсчет количества бактерий должен сочетаться с другими тестами, такими как различные проверки качества молока, проводимые другими инфракрасными приборами в лаборатории.

Поэтому современные приборы для проточной цитометрии все более интегрируются с автоматизированными системами транспортировки образцов, системами сканирования и программными системами для отслеживания всех генерируемых данных. До недавнего времени проточная цитометрия для подсчета клеток бактерий использовалась, как правило, в этих сложных лабораторных условиях. Теперь картина изменилась с появлением новых инструментов, разработанных специально для меньшего объема тестирования на молочных заводах.



Ко дну емкости с образцом молока для оплаты прикрепляется отдельный чип.



Подсчет бактерий одной кнопкой на молокозаводе

Естественно, растущее использование проточной цитометрии в крупных лабораториях поставило вопрос о том, как донести эффективность и удобство тестирования до производителей молочных продуктов, как это происходит в других аналитических технологиях, например, работающих в ближнем и среднем инфракрасном диапазоне. Это привело к созданию быстрых и простых методов тестирования для молочных продуктов, не требующих химических реагентов, для большинства областей контроля качества, кроме одного – гигиенического.

Но и здесь наблюдается прогресс, который может открыть новый фронт в борьбе с бактериями в сыром молоке.



BacSomatic™ – видео: как он работает

Компактный, с габаритами всего 40 x 40 x 40 см, простой в использовании проточный цитометрический инструмент от FOSS предлагает быструю альтернативу ручному анализу или полуавтоматическим методам, требующим работы с реагентами. Он подсчитывает как бактерии, так и соматические клетки в течение девяти с половиной минут, а компактный формат делает прибор идеальным для использования на молочных заводах, больших фермах или в меньших лабораториях по тестированию молока.

Метод проточной цитометрии в нем такой же, как и в больших полностью автоматизированных приборах, используемых лабораториями по тестированию молока для выполнения сотен тестов в час, но конструкция ориентирована на меньшую производительность, которая требуется молочным заводам для проверки сырого молока, ежедневно поставляемого автоцистернами.

Наличие быстрого и простого в использовании теста позволяет принимать оперативные решения о том, как обрабатывать поставки и наилучшим образом обрабатывать молоко согласно его гигиеническому качеству.

Интеллектуальная проточная система также позволила интегрировать подсчет бактерий и соматических клеток в одном компактном удобном инструменте, как объясняется в этом видеоролике с учеными, работающими с новым решением.

Элементы хорошего проточного цитометрического прибора

1. Воспроизводимость



Подсчет бактерий связан с большими числами; например, около 10 000 бактерий на мл – совершенно нормальное значение в образце высококачественного молока, и показания могут достигать 1 000 000 на мл в образце низкого качества. Таким образом, малейшее подмешивание предыдущего образца может существенно повлиять на результат следующего теста, и во избежание этого любая система проточной цитометрии должна включать эффективную промывку для очистки между тестами. Некоторые бактерии также имеют тенденцию собираться в кластеры, поэтому эффективная пробоподготовка как часть проточной системы приборов является важным фактором в достижении хорошей воспроизводимости.

2. Производительность



Для лабораторий по тестированию сырого молока производительность является жизненной основой для эффективного обслуживания клиентов и прибыльности лаборатории.

Работая в сочетании с автоматизированными системами подачи образцов, современные приборы проточной цитометрии могут тестировать до 600 образцов в час, подсчитывая соматические клетки, и до 200 образцов в час при подсчете бактерий.

Подсчет бактерий происходит медленнее из-за стадии инкубации, как пояснялось в описании метода выше. Однако несмотря на то, что инкубация занимает восемь минут, интеллектуальное использование нескольких инкубационных камер позволяет выполнять несколько тестов параллельно, достигая высокой производительности тестирования.

Конструктивный компромисс сделан для небольших компактных инструментов, где ручная установка образцов снижает пропускную способность по сравнению с крупными полностью автоматизированными лабораторными решениями, которые используются в лабораториях по

тестированию молока. Тем не менее, время выполнения отдельного теста должно быть одинаковым, что делает такие инструменты полезными в цепочке поставок, например, для быстрой проверки сырого молока, поступающего в цистернах на молокозавод.

3. Надежность

Как следует из требования высокой пропускной способности, высокопроизводительное проточное цитометрическое решение должно обрабатывать практически непрерывный поток образцов или чистящих (промывающих) жидкостей. Критические точки в проточной системе, такие как насосы и клапаны, должны отличаться надежностью, и любое обслуживание должно быть максимально простым.

4. Таблица преобразования количества отдельных бактерий (IBC) в КОЕ

Инструменты VactoScan™ и VacSomatic™ выдают результаты в виде количества отдельных бактерий (IBC). Однако многие лаборатории обязаны представлять свои результаты в колониеобразующих единицах (КОЕ), которые получают с помощью традиционного метода чашечного подсчета. Поэтому решение проточной цитометрии должно содержать программное обеспечение, поддерживающее использование таблицы преобразования из IBC в КОЕ.

5. Работа с реагентами



В методе используются жидкие реагенты, например, для окраски и очистки. Чтобы максимально упростить и обезопасить рабочую среду оператора, можно предусмотреть готовые к использованию реагенты в закрытых пакетах, которые эффективно предотвращают контакт с кожей. Дозировка также может контролироваться автоматически – это гарантирует неизменность состава и дозировку смешиваемых реагентов, уменьшая риск ошибки персонала и обеспечивая высокую воспроизводимость результатов.

6. Развитые сетевые возможности для эффективного управления инструментами

Развитые сетевые возможности – это нечто большее, чем подключение к интернету. Они должны позволить вам заглянуть внутрь прибора, чтобы проверить производительность и стабильность. Это необходимо для централизованного удаленного управления и наблюдения за несколькими инструментами, например, для проверки результатов регулярных проверок контрольных образцов.

Продукция FOSS, использующая проточную цитометрию для подсчета клеток бактерий

Узнайте больше о VactoScan™ здесь



Основываясь на проверенной технологии FOSS, VactoScan™ измеряет гигиеническое качество молока путем анализа бактерий в сыром молоке. Предоставляя результаты анализа всего за девять минут, VactoScan позволяет фермерам или лабораториям по тестированию молока предпринимать своевременные действия для сохранения и повышения качества молока. Можно выполнять до 200 тестов в час.

Узнайте больше о VacSomatic™ здесь



VacSomatic™ – первый в мире прибор, подсчитывающий количество бактерий и соматических клеток одновременно с одной пробы для тестирования гигиенического качества молока.

Компактный, простой в использовании инструмент предлагает быструю альтернативу ручному анализу или полуавтоматическим методам, требующим работы с реагентами. Он выдает точные результаты для подсчета бактерий и соматических клеток менее, чем за девять с половиной минут или менее, чем за одну с половиной минуту при подсчете только соматических клеток. Компактный формат делает его идеальным для использования на молочных заводах, больших фермах или в небольших лабораториях по тестированию молока.