

PROCEEDINGS

CONVEGNO ANALYTICA 2018

AEOS - RUMINANTIA®

ROMA 14 - 15 MARZO 2018



2018 **ANALYTICA**

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma



Benvenuti

AEOS-Ruminantia, Roma 14-15 Marzo 2018



2018 ANALYTICA

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma



CON IL PATROCINIO DI



ITALIA



THE GLOBAL STANDARD
FOR LIVESTOCK DATA



SPONSOR



FOSS





2018 ANALYTICA

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma



Grazie !!!!

Ai relatori intervenuti



Programma

RUMINANTIA

AEOS

RIVOLTO A

Veterinari, zootecnici, organizzazioni di allevatori, laboratori del settore lattiero-caseario e agroalimentare, caseifici aziendali, industria lattiero-casearia e mangimistica, produttori di materiali riferimento e ring test, ispettori sistemi qualità, enti di certificazione ed accreditamento.

PROGRAMMA

Mercoledì 14 Marzo 2018 (10:30-17:00)

- 10:30-11:00 **Silvia Orlandini, Alessandro Fantini:** Apertura convegno, AEOS-RUMINANTIA.
- 11:00-11:20 **Platon Chitzos:** "Latte e mangimi – Sistema rapido per la determinazione delle aflatoxine", Sacco.
- 11:20-11:40 **Dario Bianchi:** "Controllo analitico rapido ed accurato delle produzioni aziendali e dei mangimi come supporto per una produzione standardizzata di mangimi di qualità, ed una ottimale gestione della razione alimentare", Foss.
- 11:40-12:10 **Christian Baumgartner:** "Strategic udder health monitoring and benchmarking based on national SCC data in Germany Milchprüfung", Bayern e.V. General Manager.
- 12:10-12:40 **Cinzia Marchitelli:** "Biomarkers del latte per la valutazione dello stato sanitario della mammella in vacche ad elevata produzione", CREA-ZA Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura.
- 12:40-13:00 **Discussione.**
- 13:00-14:00 Pranzo
- 14:00-14:30 **Shmulik Friedman DVM PhD:** "Selective dry treatment for the reduction of antibiotic use", ISRAEL Dairy Board Manager & Scientific Director.
- 14:30-15:00 **Hen hana Honig:** "New approach for medical treatment in control of mastitis pain", Agricultural Research Organization, Volcani Center Capo progetto.
- 15:00-15:30 **Maria Scognamiglio:** "ISO/IEC 17025:2017 Principali innovazioni dell'edizione 2017", Accredia, Funzionario Tecnico Dipartimento Laboratori di Prova.
- 15:30-16:00 Coffee Break
- 16:00-16:30 **Marina Patriarca:** "Houston abbiamo un problema: accuratezza di misura!", Vice Presidente Eurachem Dipartimento di Sicurezza alimentare, nutrizione e sanità pubblica veterinaria, Istituto superiore di sanità, Roma.
- 16:30-17:00 **Stewart Stockdale:** "Case study with the use of different reference materials in dairy sector", Neometrix.

RUMINANTIA

AEOS

Giovedì 15 Marzo 2018 (9:00-13:00)

- 9:00-9:20 **Matteo Schirano:** "Diagnosi di mastiti mediante determinazione dell'amiloide A nel latte", Bentley.
- 9:20-9:50 **Giovanna Contarini:** "La normazione volontaria a supporto delle aziende, della legislazione e dei consumatori: l'esempio del lattosio", CREA-ZA Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria - Centro di ricerca Zootecnia ed Acquacoltura Direttore Ricerca.
- 9:50-10:20 **Stefania Arioli:** "La conta totale della carica microbica in preparazioni starter e formulazioni probiotiche mediante citometria a flusso", Department of Food Environmental and Nutritional Sciences (DeFENS), Università di Milano, Ricercatore.
- 10:20-10:50 **Massimo De Marchi:** "Recenti applicazioni della spettroscopia all'infrarosso nell'industria lattiero casearia Italiana", Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE) dell'Università degli Studi di Padova, Professore Associato.
- 10:50-11:30 Coffee Break
- 11:30-12:00 **Fabio Fuselli:** "Normative, controlli e riferibilità analitica per il giudizio di conformità Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (MiPAAF)", Funzionario tecnico DG e Responsabile Qualità del Laboratorio di Roma ICQRF.
- 12:00-12:30 **Giovanna Zappa:** "Metrofood", ENEA.
- 12:30-13:00 **Silvia Orlandini:** "Strategie Analitiche ed Aggiornamento progetti ICAR/ISO/IDF", AEOS.
- 13:00-13:15 **Silvia Orlandini, Alessandro Fantini:** "Chiusura Convegno", AEOS-RUMINANTIA.

Workshop Sacco "Symmetric technology: innovazioni dei test rapidi per la determinazione di aflatoxine"

Durante la mattina di Giovedì 15 Marzo si terrà un workshop organizzato da Sacco, in parallelo al convegno, per la durata di 60 minuti

Sessione Posters

- **Alessandro Fantini:** "Presentazione Ruminantia e progetti correnti", Ruminantia.



Sezione Posters

Prendetene visione ed entrate in contatto con gli autori !!!

Maria Ciprotti

Marilena D'Amato

Dr Christian Baumgartner

Silvia Orlandini

Informazioni Organizzative :

Possibilità di visitare le aree degli sponsors nel corso dei Coffee Breaks ed il pranzo di Mercoledì
13:00-14:00

Cena al Castello di Torre in Pietra
Partenza dall'albergo alle 17:30 !!!



Giovedì Workshop organizzato da Prognosis-Sacco

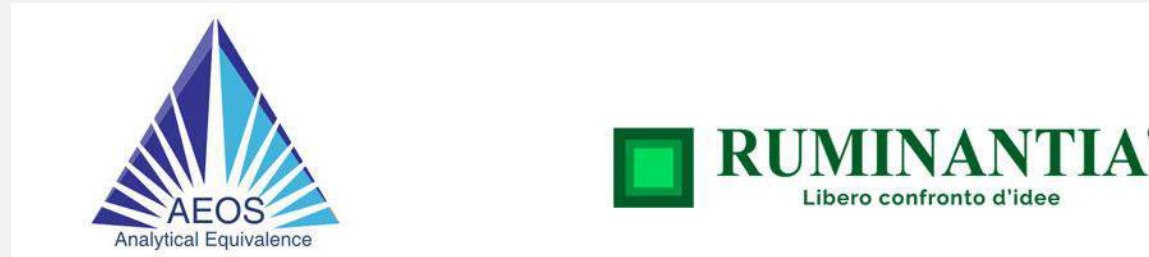
Diverse opzioni:

1° 9:20-10:20

2° 11:30-12:30

3° 13:00-14:00

CONVEGNO ANALYTICA 2018 – AEOS & RUMINANTIA



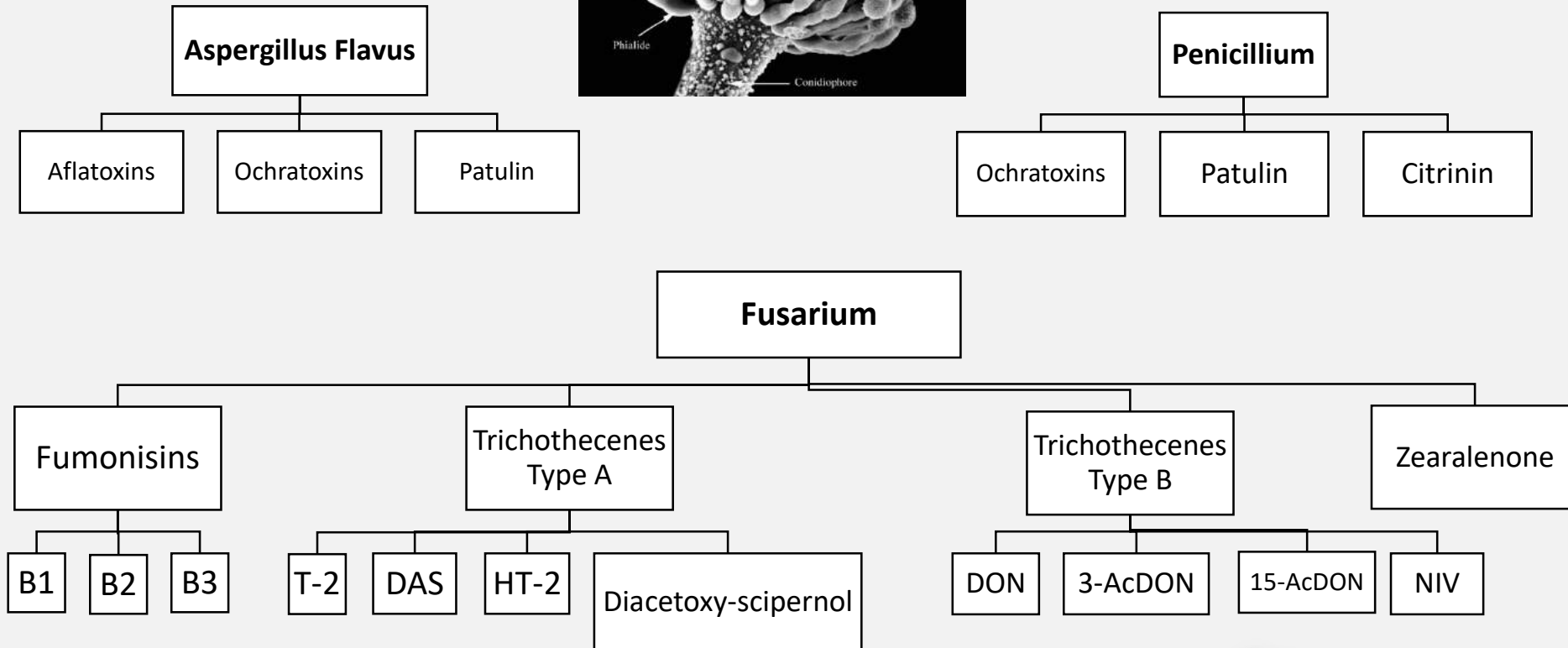
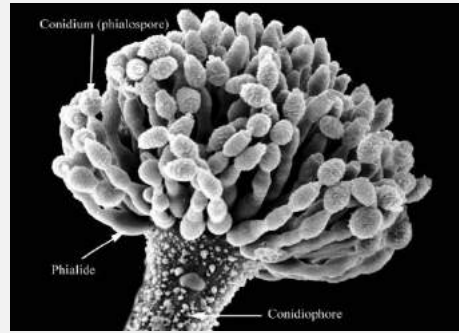
Milk & Feed – Rapid Aflatoxin Analysis

M. Gkanas, Ch. Chatzoglou, K. Badra, Ch. Tsaridou, A.N. Ntantasios, G. Papageorgiou
and S.D. Athanasiou

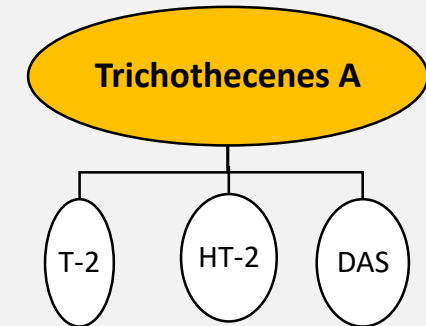
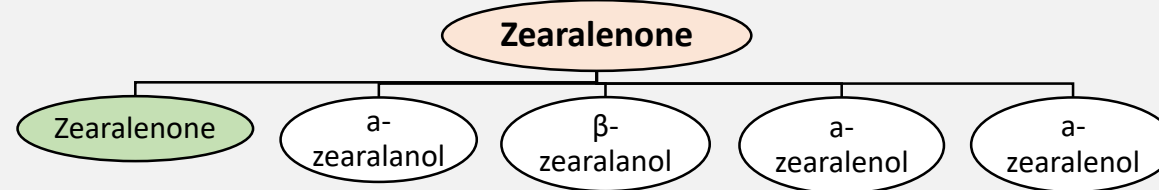
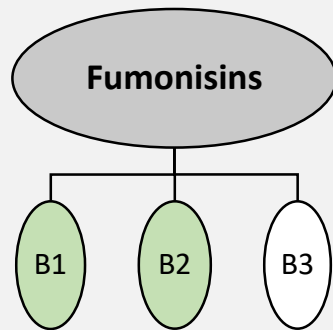
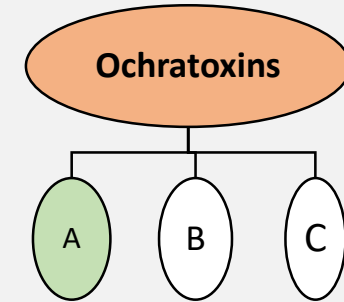
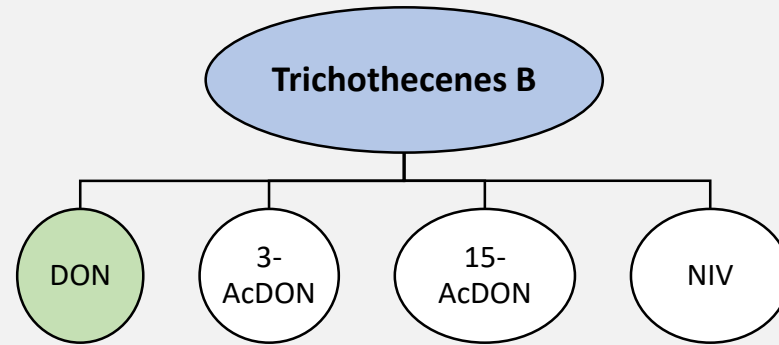
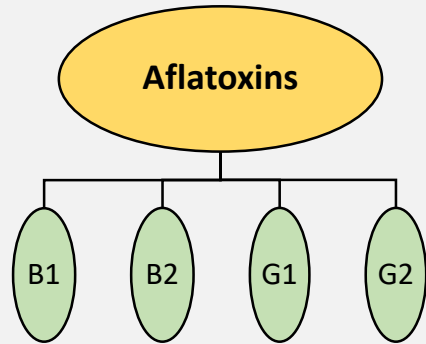
Dipartimento di Ricerca & Sviluppo



Fungi and mycotoxins



Cross-reattività e requisiti legislativi



○ = legislated Mycotoxins



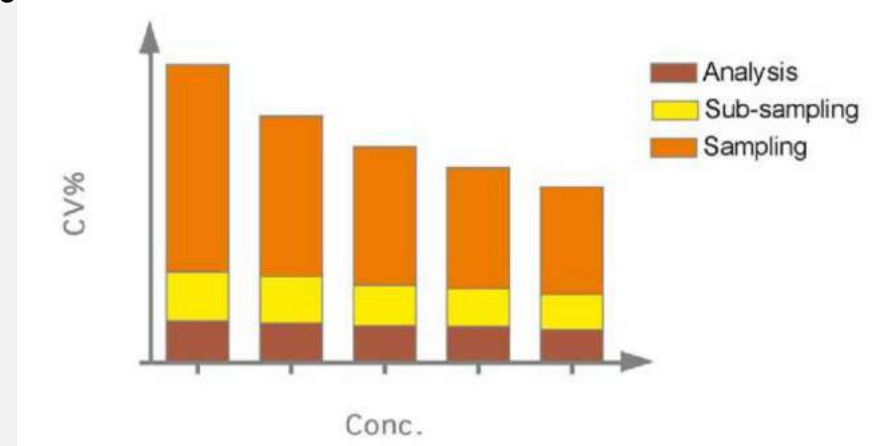
PROGNOSIS
BIOTECH

Matrici

Aflatoxins	Ochratoxin A	DON	Zearalenone	Fumonisin	T-2/HT-2
Mais	Orzo	Grano	Grano	Mais	Avena
Grano	Mais	Orzo	Orzo		Grano
Orzo	Grano	Avena	Avena		Orzo
Riso	Fichi	Mais	Mais		Germogli di soia
Nocciole	Uva passa	Semi di cotone	Semi di cotone		Mais
Pistacchio	Chili	Germogli di soia	Germogli di soia		
Fichi	Soia	Semi di girasole	Semi di girasole		
Uva passa	Paprica				
Mandorle					
Paprica					
Chili					
Anacardi					

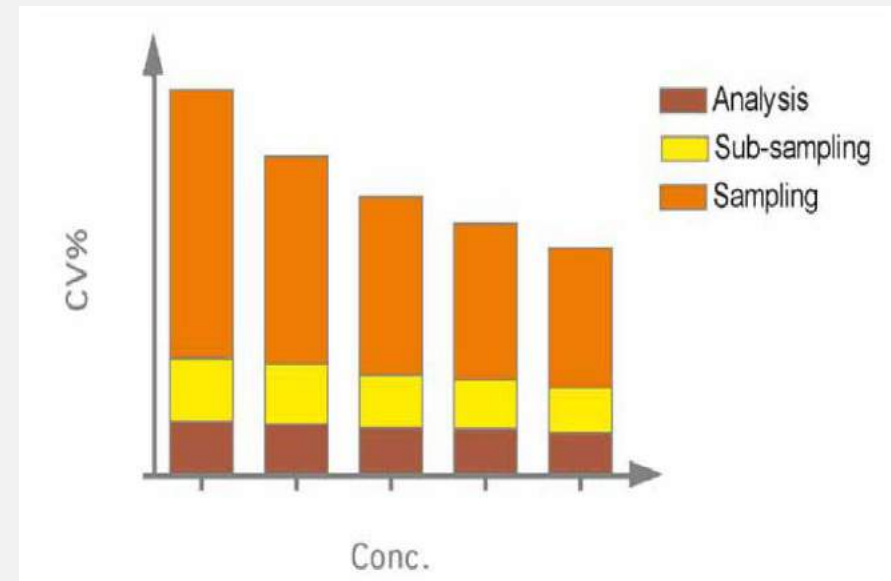
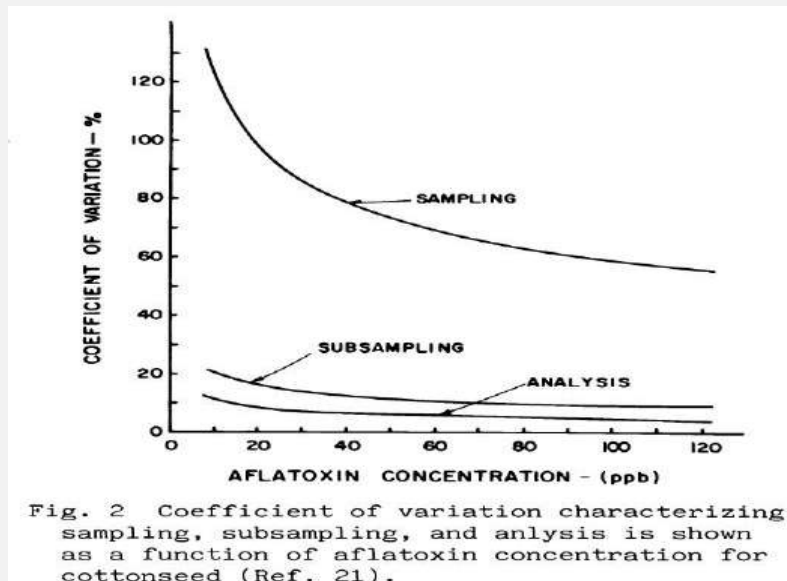
Importanza di una procedura di campionamento corretta

- Diversi studi hanno dimostrato che la fase di campionamento è critica in quanto implica un'importante inesattezza e come conseguenza potrebbe portare a un errore più elevato.
- Questa variabilità è particolarmente elevata a basse concentrazioni di micotossine e questodiminuisce quando la concentrazione si aumenta.
- Il sub-campionamento e le fasi di analisi contribuiscono meno alla inesattezza, ed il loro contributo, non varia in modo significativo la concentrazione.



Importanza di una corretta procedura di campionamento per cereali e alimenti per animali

- I metodi tradizionali di campionamento e preparazione dei campioni di colture agricole e alimentari non sono generalmente adeguati per l'analisi delle micotossine
- La considerazione più critica è la quantità e il numero di campioni che dovrebbero essere usati per descrivere in modo accurato una grande quantità di mangimi per animali.



La preparazione di campioni rappresentativi è la chiave per le Procedure della Garanzia per la qualità

Esempio di campionamento in un camion non compartimentato



Per le materie prime consegnate alla rinfusa, il campionamento deve essere effettuato dall'alto verso il basso del camion, con attrezzature dedicate come una sonda a doppio tubo.

La relazione tra la quantità di B1 e M1

- La relazione tra la quantità dell'Aflatossina B1 ingerita dall'animale e la quantità di Aflatossina M1 nel latte è piuttosto variabile. La maggior parte degli autori ritiene che il trasferimento di aflatossine nel latte sia compreso **tra 1 e 3%**, con un trasferimento medio di $\approx 1,7\%$. Però, sono stati segnalati anche, fattori di trasferimento fino al 5-6%.
- Ad esempio, una concentrazione di 500ppt di Aflatossina M1 nel latte può verificarsi quando la razione totale di mangime misto contiene più **di 10 ppm / kg di Aflatossina B1**.



Existing Lateral-flow CV%

- Il CV% di un Lateral-flow medio è compreso tra 20-40%.

Example:

sample 1	4.8
sample 1	2.7
sample 1	3.9
sample 1	6.2
sample 1	7

sample 1	530
sample 1	265
sample 1	350
sample 1	610
sample 1	320

- $CV\% = 35.1$ - mean = **4.92 ppb** $CV\% = 35.5$ – mean = **41ppt**
- Da tutti questi valori l'utente ne avrà uno solo, ma il risultato è pienamente in grado di stabilire una tendenza.



Existing ELISA CV%

- Il CV% del metodo ELISA medio è compreso tra il 5 e il 20%.

Example:

Aflatoxin B1 product

sample 1	4.5
sample 1	3.7
sample 1	3.9
sample 1	4
sample 1	4.2

Aflatoxin M1 product

sample 1	450
sample 1	465
sample 1	405
sample 1	415
sample 1	440

- CV% = 7.5 mean = **4.06 ppb**

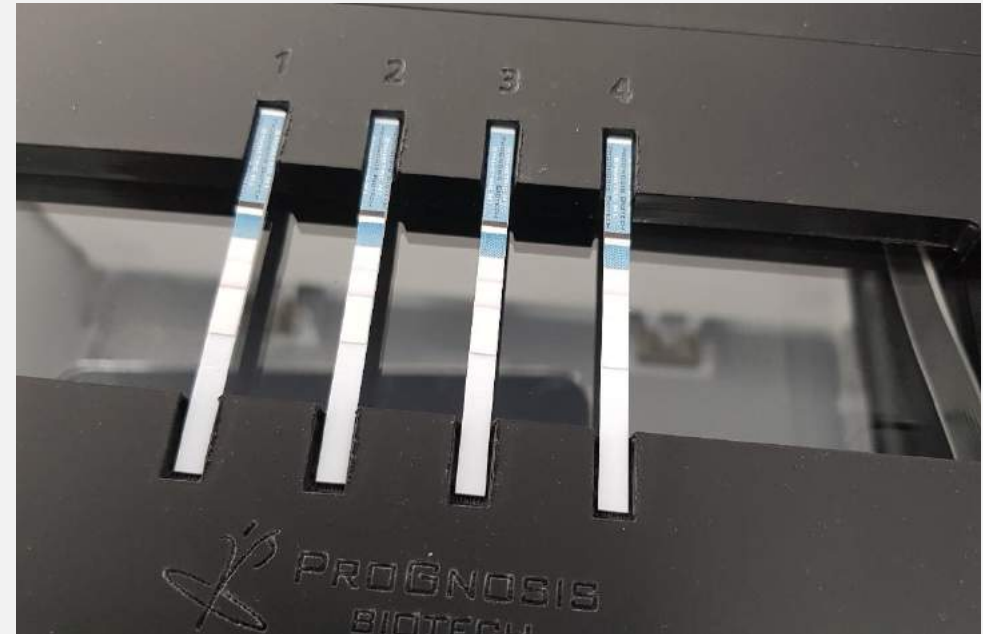
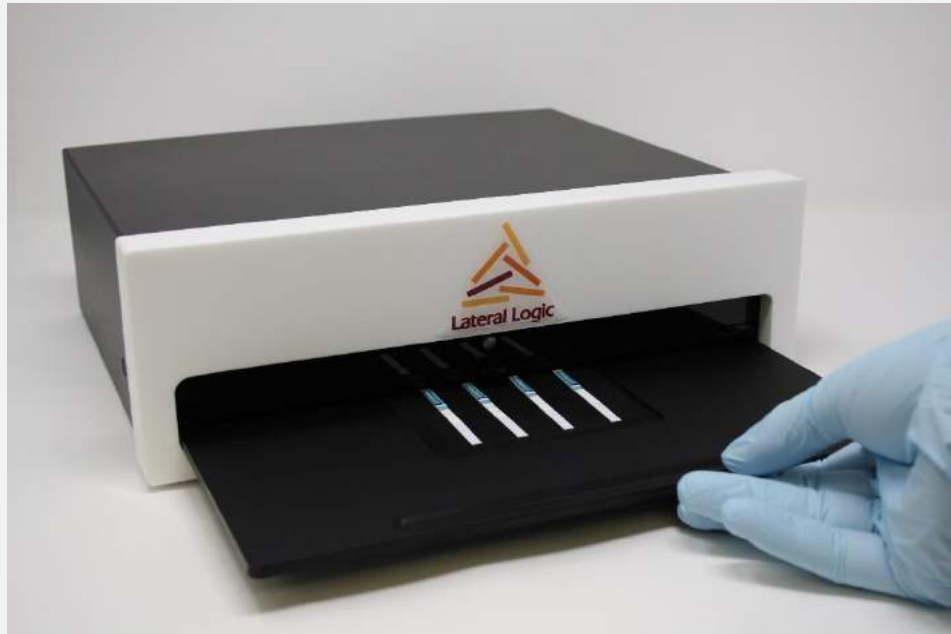
CV% = 5.7 mean= **43.50ppt**

- Da tutti questi valori l'utente ne avrà uno solo, ma il risultato è pienamente in grado di stabilire una tendenza.



Tecnologia Symmetric

Un approccio rivoluzionario di Test Rapidi, che dimostra elevata riproducibilità e accuratezza, uguale o migliore a quella di ELISA

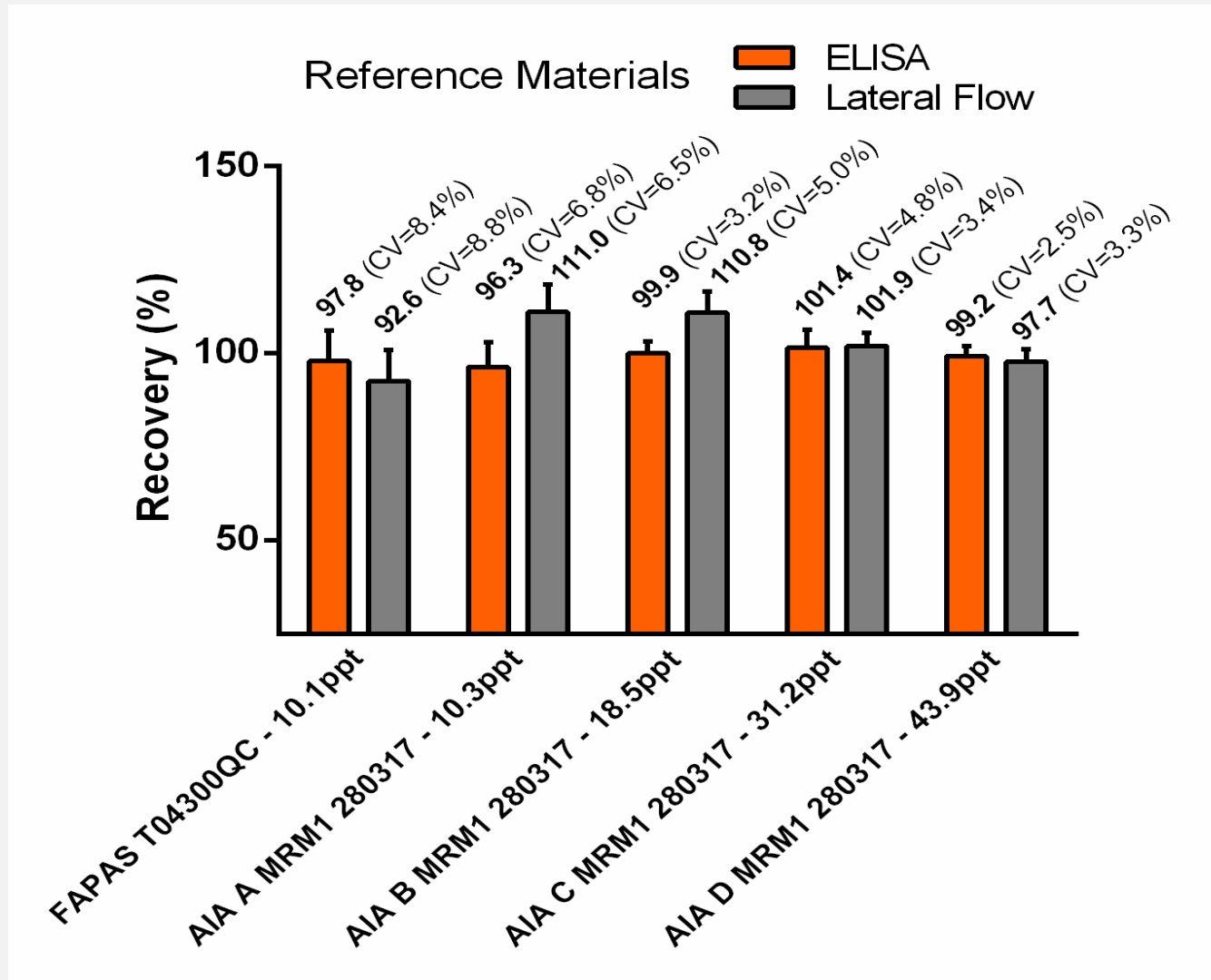


Caratteristiche di Symmetric M1

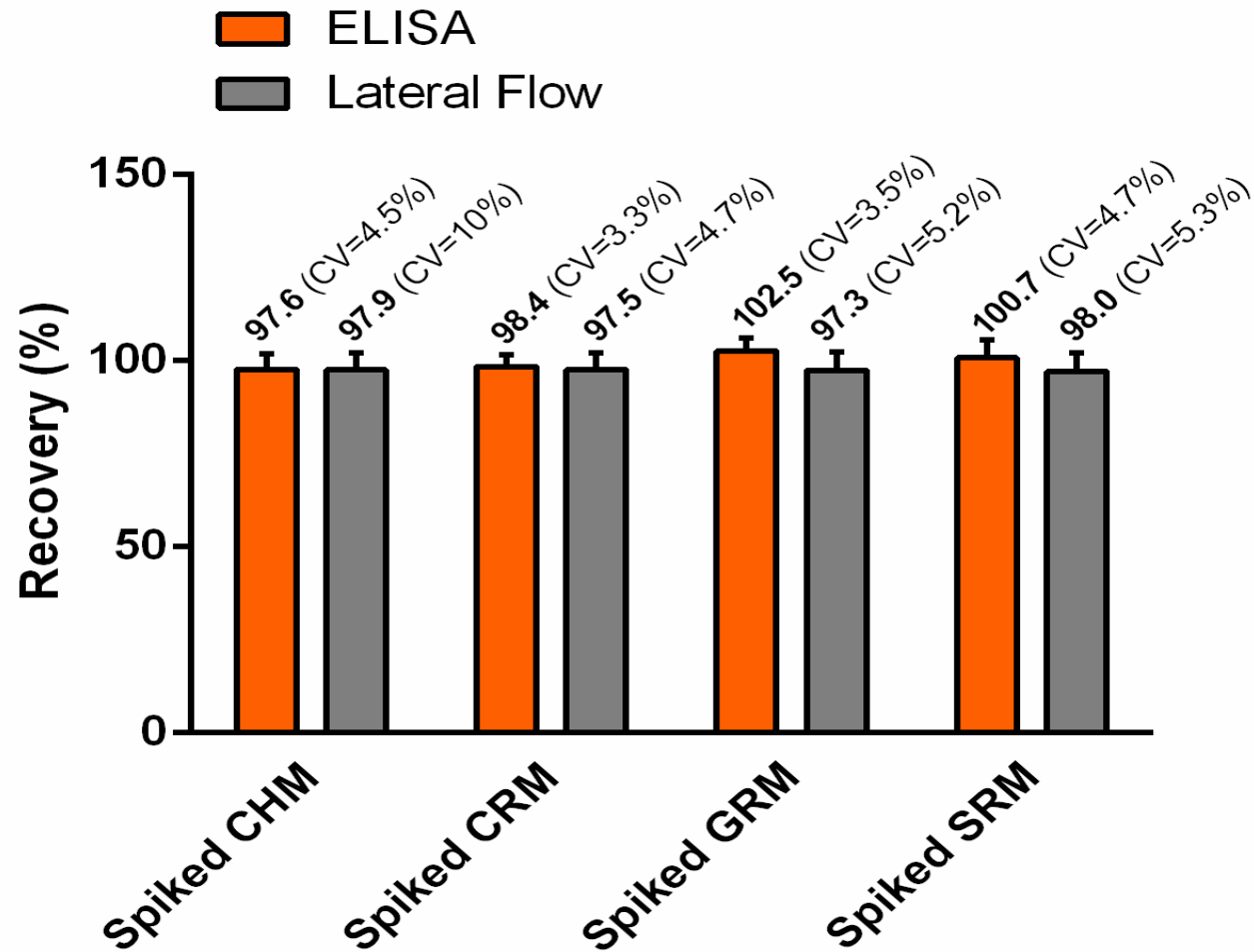
- **LOD/LOQ (Limiti di Rilevamento / Quantificazione): 2ppt/ 8ppt**
 - I più bassi nel mercato dei Test Rapidi. Quasi simile all'ELISA.
- **CV (Coefficiente di Variazione): <8%**
 - Nell' area di 25-75 ppt, Standard Deviation è inferiore al 8%.
- **Velocità: 10 minuti.**
 - Due fasi di 5+5 minuti.
- **Stabilità: leggere entro 10 minuti dopo la fine dell'esperimento.**
 - L'unico prodotto sul mercato che consente all'utente di leggere entro 10 minuti dalla fine dell'esperimento, senza alterazioni significative dei risultati.
- **Specie di latte: funziona perfettamente con qualsiasi tipo di latte, UHT, vaccino, di capra, di pecora e di bufalo.**
 - Indipendentemente dal grasso contenuto, la precisione è ugualmente elevata utilizzando il software S-Flow.
- **Selettività: <0,1% di cross-reattività con Aflatossina M2**
 - In conformità con ISO 14675: 2003, secondo cui il livello accettato è <20%.
- **Software: veloce e facile da usare**
 - Entro 10 secondi avrai un risultato con un solo clic.



Symmetric M1 vs ELISA in CRM Testing



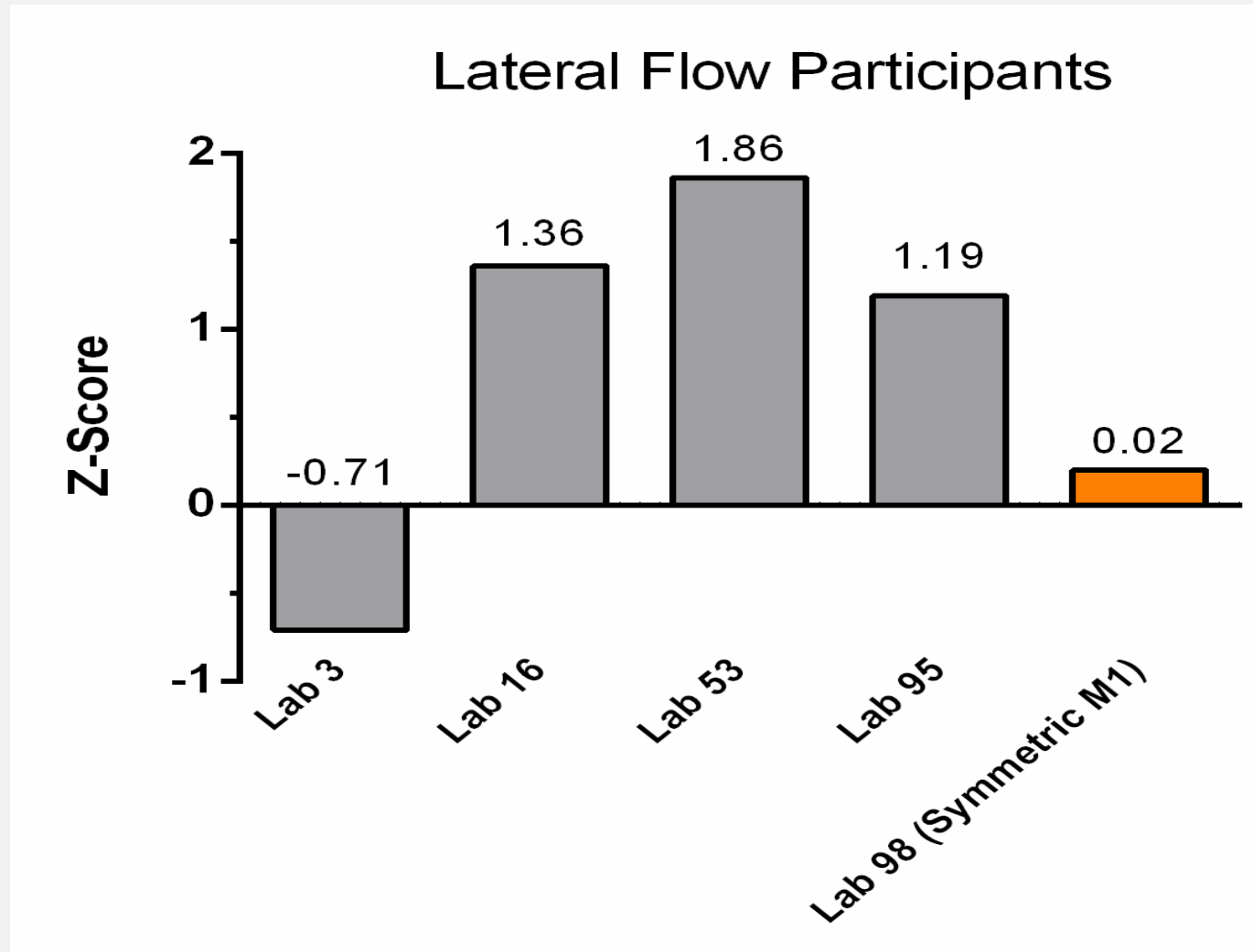
Symmetric M1 vs ELISA in Spiked Sample Testing



AIA Proficiency Test di Symmetric M1

- ProGnosis partecipa mensilmente ai Test di Competenza (Ring Tests) organizzati da FAPAS (Regno Unito), AIA (Italia), BIPEA (Francia) e DRRR (Germania)
- ELISA partecipazioni su diverse matrici (frutta secca, noci, mais, ecc.)
- Per quanto riguarda il latte, ProGnosis ha ottenuto punteggi eccellenti nel latte crudo, latte in polvere, yogurt, formaggio e formaggio fuso. In September Symmetric M1 participated for the first time in AIA (Italy) Ring Test on Milk, achieving optimum results
- Symmetric M1 di ProGnosis Biotech conteneva Laboratory Code 98
- Tutti e 4 i campioni sono stati testati con eccellenti punteggi z (da 0,02 a 0,30)
- Symmetric M1 ha ottenuto risultati migliori rispetto alla maggior parte dei partecipanti ELISA e HPLC, dimostrando una precisione unica in 4 diverse aree di interesse (10, 20, 30 e 40 ppt)

AIA Proficiency Test of Symmetric M1



Symmetric Total ES & Total ES Green

	Symmetric Total ES	Symmetric Total ES Green
Time	10 min.	10 min.
Range	0-8 ppb (0-40 ppb)	0-12 ppb (0-60 ppb)
LOD	0.10 ppb	0.20 ppb
LOQ	0.25 ppb	0.50 ppb
Cross Reactivity	B1 100%, B2 79%, G1 89%, G2 45%	B1 100%, B2 65%, G1 59%, G2 46%
Matrices	Corn, Corn Silage, Corn Pastone, Wheat, Barley, Oats, Rice, Soybeans, Sunflower, Cottonseed, Peanuts, Hazelnuts, Almonds, Dried Figs, Raisins	Corn, Corn Silage, Corn Pastone, Wheat, Barley, Oats, Rice, Soybeans, Sunflower, Cottonseed, Peanuts, Hazelnuts, Almonds, Dried Figs

Symmetric Total ES Characteristics

- **LOD/LOQ (Limiti di Rilevamento / Quantificazione): 0.10 ppb/0.25 ppb**
 - Il più basso nel mercato dei Test Rapidi. Quasi simile all'ELISA.
- **CV (Coefficiente di variazione): <8%**
 - Nell' area di 1.5-7 ppb, la deviazione standard è inferiore a 8%.
- **Velocità: 10 minuti.**
 - Fase singola di 10 minuti, stick nel pozzeto.
- **Stabilità: leggere entro 10 minuti dopo che l'esperimento è terminato.**
 - L'unico prodotto sul mercato che consente all'utente di leggere entro 10 minuti dalla fine dell'esperimento, senza alterazioni significative dei risultati.
- **Effetto matrice: Funziona perfettamente in qualsiasi tipo di matrice**
 - Matrici difficili come semi di cotone o frutta secca, vengono analizzate con un recupero eccellente.
- **Selettività: B1 100%, B2 79%, G1 89%, G2 45%**
 - Reattività crociata molto elevata con B2 e G1, più della maggior parte dei kit ELISA sul mercato.
- **Software: veloce e facile da usare**
 - Entro 10 secondi avrai un risultato con un solo clic



Symmetric Total ES Green Characteristics

Symmetric Total ES Green utilizza un buffer ecologico senza solventi organici

- **LOD/LOQ (Limiti di Rilevamento / Quantificazione): 0.25 ppb/0.50 ppb**
 - Il più basso nel mercato dei Test Rapidi. Quasi simile all'ELISA.
- **CV (Coefficiente di variazione): <8%**
 - Nell' area di 2.5-8 ppb, la deviazione standard è inferiore a 8%.
- **Velocità: 10 minuti.**
 - Fase singola di 10 minuti, stick nel pozzeto.
- **Stabilità: leggere entro 10 minuti dopo che l'esperimento è terminato.**
 - L'unico prodotto sul mercato che consente all'utente di leggere entro 10 minuti dalla fine dell'esperimento, senza alterazioni significative dei risultati.
- **Effetto matrice: Funziona perfettamente in qualsiasi tipo di matrice.**
 - Matrici difficili come semi di cotone o frutta secca, vengono analizzate con un recupero eccellente.
- **Selettività: B1 100%, B2 65%, G1 59%, G2 46%**
 - Reattività crociata molto elevata tenendo conto dell'estrazione dell'acqua.
- **Software: veloce e facile da usare**
 - Entro 10 secondi avrai un risultato con un solo clic



Symmetric Total ES

Reference material	Lot number	Assigned value (µg/kg)		Range for z	Result (µg/kg)
FAPAS Hazelnut (water/nut slurry) T04318QC	N° 110	Aflatoxin B1	3.26	1.82 - 4.69	
		Aflatoxin B2	1.96	1.10 - 4.83	
		Aflatoxin G1	1.81	1.02 - 2.61	
		Aflatoxin G2	1.54	0.86 - 2.21	
		Aflatoxins (total)	8.58	4.80 - 12.35	7.28
FAPAS Dried Figs (water/fruit slurry) T04320QC	N° 14	Aflatoxin B1	2.48	1.39 - 3.57	
		Aflatoxin B2	0.96	0.54 - 1.39	
		Aflatoxin G1	2.65	1.48 - 3.82	
		Aflatoxin G2	0.83	0.46 - 1.19	
		Aflatoxins (total)	6.61	3.81 - 9.81	5.20
BIPEA Baby Food 07-3931	-	Aflatoxin B1	0.21	0.08 - 0.34	
		Aflatoxin B2	0.25	0.10 - 0.40	
		Aflatoxin G1	0.24	0.10 - 0.38	
		Aflatoxin G2	0.23	0.09 - 0.37	
		Aflatoxins (total)	0.94	0.38 - 1.50	0.94
TRILOGY Corn A-C-2211	-	Aflatoxin B1	8.6	-	
		Aflatoxin B2	0.8	-	
		Aflatoxins (total)	9.4	6.80 - 12.00	7.01
FAPAS Maize T04284QC	N° 1	Aflatoxin B1	7.34	4.11 - 10.56	
		Aflatoxins (total)	7.68	4.30 - 11.57	6.18
TRILOGY Corn A-C-2208	-	Aflatoxin B1	1.7	1.2 - 2.3	1.69
FAPAS Infant Food T04289QC	N° 60	Aflatoxin B1	0.095	0.053 - 0.136	0.103
FAPAS Maize T04312QC	N° 35	Aflatoxin B1	3.07	1.72 - 4.42	3.00
FAPAS Maize T04319QC	N° 16	Aflatoxin B1	4.69	2.63 - 6.76	4.81

Symmetric Total ES Green

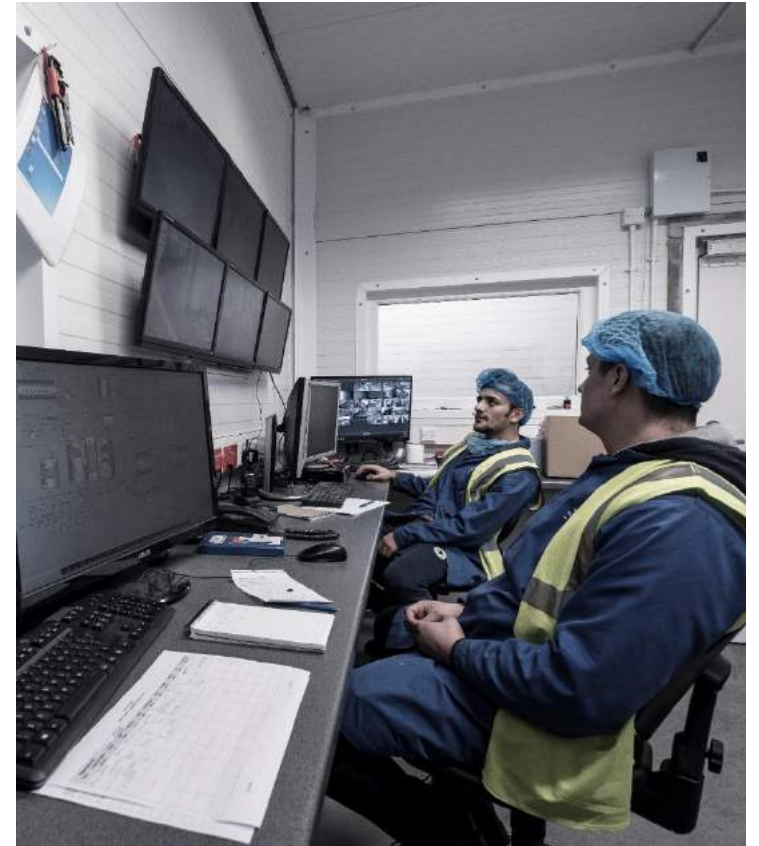
Reference material	Lot number	Assigned value (µg/kg)		Range for z	Result (µg/kg)
FAPAS Hazelnut (water/nut slurry) T04318QC	N° 110	Aflatoxin B1	3.26	1.82 - 4.69	
		Aflatoxin B2	1.96	1.10 - 4.83	
		Aflatoxin G1	1.81	1.02 - 2.61	
		Aflatoxin G2	1.54	0.86 - 2.21	
		Aflatoxins (total)	8.58	4.80 - 12.35	5.92
FAPAS Dried Figs (water/fruit slurry) T04320QC	N° 14	Aflatoxin B1	2.48	1.39 - 3.57	
		Aflatoxin B2	0.96	0.54 - 1.39	
		Aflatoxin G1	2.65	1.48 - 3.82	
		Aflatoxin G2	0.83	0.46 - 1.19	
		Aflatoxins (total)	6.61	3.81 - 9.81	5.71
TRILOGY Corn A-C-2211	-	Aflatoxin B1	8.6	-	
		Aflatoxin B2	0.8	-	
		Aflatoxins (total)	9.4	6.80 - 12.00	7.62
FAPAS Maize T04284QC	N° 1	Aflatoxin B1	7.34	4.11 - 10.56	
		Aflatoxins (total)	7.68	4.30 - 11.57	6.49
FAPAS Maize T04312QC	N° 35	Aflatoxin B1	3.07	1.72 - 4.42	3.11
FAPAS Maize T04319QC	N° 16	Aflatoxin B1	4.69	2.63 - 6.76	4.69

ProGnosis Biotech Mycotoxin LF Range

P/N	Data di Lancio Stimata
Symmetric OTA	9/2018
Symmetric FUMO	9/2018
Symmetric DON	9/2018
Symmetric ZON	9/2018
Symmetric T-2/HT-2	9/2018



FOSS, NON SOLO LATTE.....



FOSS – SETTORI DI MERCATO

FOSS

LABORATORI LATTE CENTRALIZZATI



LATTIERO CASEARIO



CEREALICOLO MOLITORIO



VINO



CARNE



MANGIMI & FORAGGI



INDUSTRIE ALIMENTARI



LABORATORI

ANALYTICS BEYOND MEASURE

FOSS – SETTORI DI MERCATO

FOSS

PARTNERSHIP CON I PRINCIPALI KEY ACCOUNTS INTERNAZIONALI

LABORATORI LATTE CENTRALIZZATI



LATTIERO CASEARIO



CEREALICOLO MOLITORIO



VINO



CARNE



MANGIMI & FORAGGI



INDUSTRIE ALIMENTARI



LABORATORI


CONTROLLO ANALITICO RAPIDO ED ACCURATO DELLE **FOSS** PRODUZIONI AZIENDALI E DEI MANGIMI, COME SUPPORTO PER UNA PRODUZIONE STANDARDIZZATA DI MANGIMI DI QUALITÀ ED UNA OTTIMALE GESTIONE DELLA RAZIONE ALIMENTARE



FONTE ASSALZOO ANNUARIO 2017

PRINCIPALI INDICATORI ECONOMICI DELL'INDUSTRIA ITALIANA DI ALIMENTI COMPOSTI

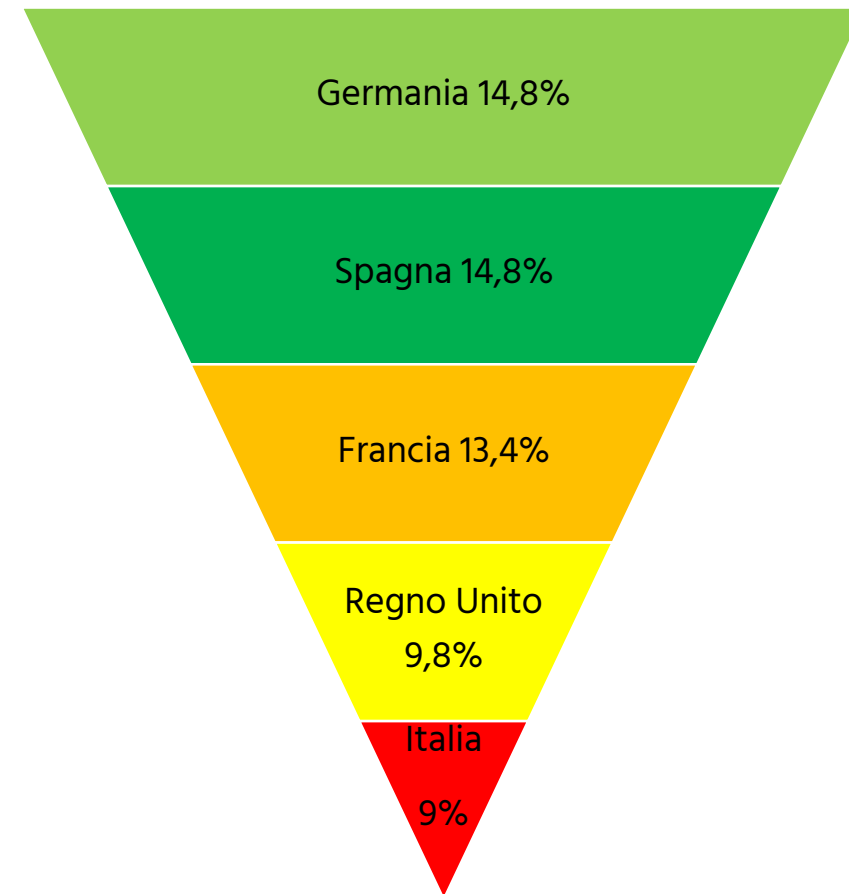
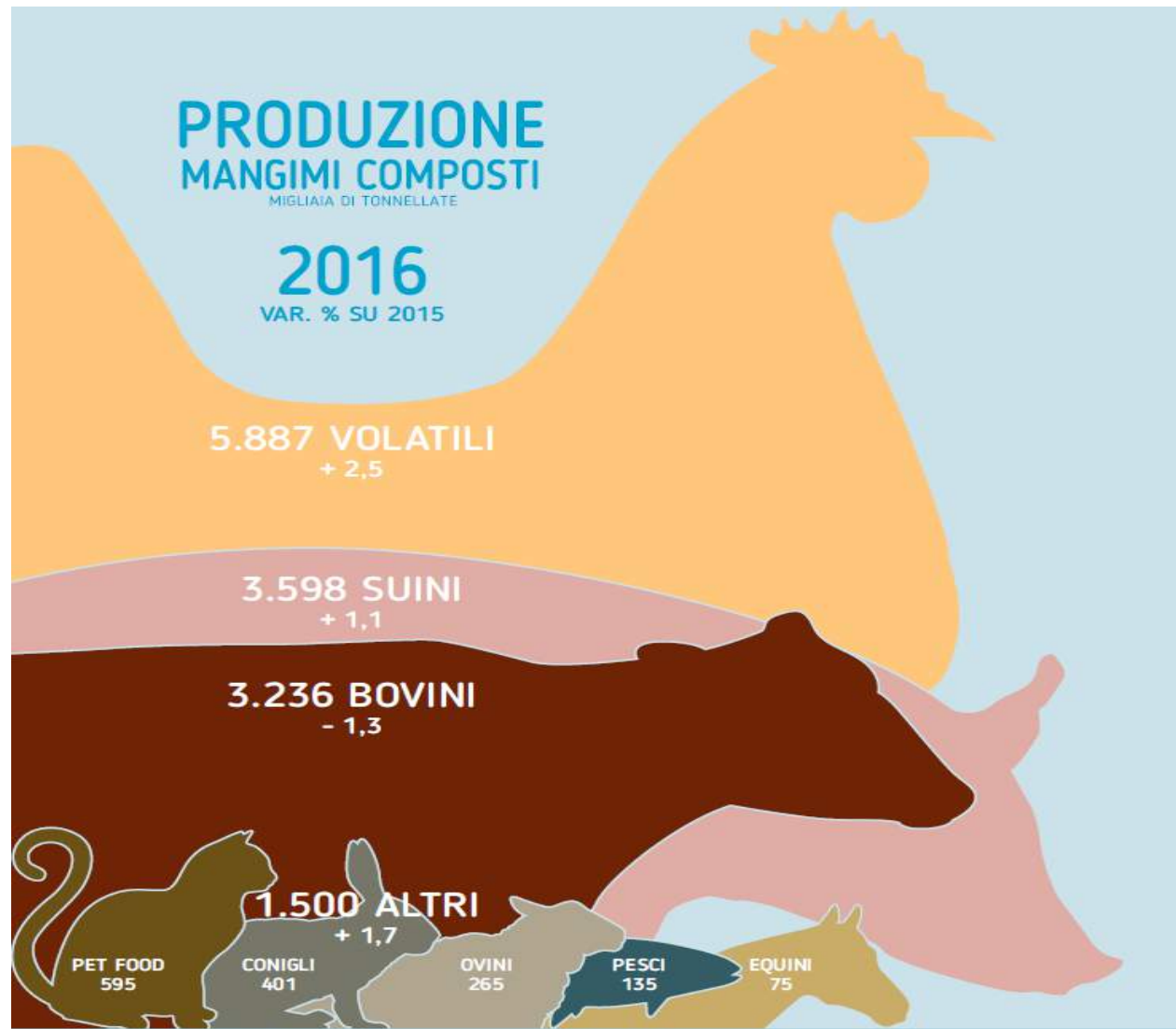
Valori in euro correnti negli anni considerati

	2014	2015	2016 stime	
PRODUZIONE migliaia di tonn.	14.090	14.056	14.226	
FATTURATO milioni di Euro	6.360	5.860	6.020	
PREZZI ALLA PRODUZIONE variazioni %	-13,5	-9,0	+2,2	

PRINCIPALI DATI SETTORE MANGIMISTICO ITALIANO

FOSS

SUDDIVISIONE PER TIPOLOGIA



fonte Assalzo

QUOTAZIONI MEDIE DI ALCUNE MATERIE PRIME UTILIZZATE NELL'ALIMENTAZIONE ANIMALE (EURO/TONNELLATA)

FOSS

Fonte: ELABORAZIONI ASSALZOO SU LISTINI DELLE BORSE MERCI DI MILANO E BOLOGNA

MATERIE PRIME	2012	2013	2014	2015	2016				
						2013/ 2012	2014/ 2013	2015/ 2014	2016/ 2015
Grano tenero	253,71	234,79	196,61	188,92	171,40	-7,5	-16,3	-3,9	-9,3
Mais	231,59	216,99	180,94	161,71	178,32	-6,3	-16,6	-10,6	10,3
Orzo	249,49	238,53	201,94	190,72	171,43	-4,4	-15,3	-5,6	-10,1
Farina di soia	456,32	481,56	451,25	395,04	373,60	5,5	-6,3	-12,5	-5,4
Farinaccio	203,65	193,56	159,61	154,00	142,77	-5,0	-17,5	-3,5	-7,3
Crusca	174,91	170,29	136,17	128,38	123,26	-2,6	-20,0	-5,7	-4,0
Germe di mais	305,51	253,62	210,51	219,76	222,57	-17,0	-17,0	4,4	1,3
Farina glutinata	220,86	220,27	186,31	167,01	159,24	-0,3	-15,4	-10,4	-4,7
Girasole	238,85	268,4	225,19	229,85	213,62	12,4	-16,1	2,1	-7,1
Farina di erba medica	218,35	315,54	221,11	202,45	194,01	44,5	-29,9	-8,4	-4,2
Polpe di barbabietole	219,01	245,06	221,89	168,54	186,86	11,9	-9,5	-24,0	10,9
Farina di pesce	1408,27	1565,44	1543,58	1.766,36	1.722,13	11,2	-1,4	14,4	-2,5

FORAGGI E INSILATI E ALTRI PRODOTTI AZIENDALI

Rappresentano una fetta importante della razione alimentare



- Spesso presentano forti disomogeneità tra i vari lotti



- La composizione nutrizionale cambia molto da partita a partita e anche all'interno della stessa partita (es: silomais in trincea)

ESEMPIO DI CONSEGUENZA DI VARIABILITA': SILOMAIS – ALLEVAMENTO VACCHE DA LATTE

FOSS

Nutrizionista formula una dieta con obiettivo di produzione pari a 30 kg latte/giorno

Feed Ingredients	kg (fresh basis)	Proportion (%DM)	Feed Components Nutritive Value			
			Kg DM	% DM	% CP	% TDN
Corn Silage	36.41	50.02%	10.92	30.0%	6.1%	62.0%
Mineral	0.20	0.92%	0.20	100.0%	0.0%	0.0%
Salt	0.02	0.09%	0.02	100.0%	0.0%	0.0%
Urea	0.10	0.47%	0.10	99.0%	281.0%	0.0%
Dried Citrus Pulp	1.09	4.27%	0.93	85.8%	6.9%	79.8%
Soybean Meal	4.32	17.70%	3.86	89.5%	54.0%	81.4%
Corn	6.58	26.52%	5.79	88.0%	9.4%	82.0%
TMR	48.73		21.8	44.8%	16.7%	70.6%

CP = Crude Protein DM= Dry Matter TDN = Total Digestible Nutrients (o Energia netta)

ESEMPIO DI CONSEGUENZA DI VARIABILITA': SILOMAIS

FOSS

- composizione del Silomais diversa e conseguente Qualità nutrizionale modificata:
- **27% DM – 7.0% CP – 56% TDN** (precedentemente era 30 % DM - 6,1 %CP – 62 % TDN)

ANALYTICS BEYOND MEASURE

Feed Ingredients	Kg (fresh basis)	Proportion (%DM)	Kg DM	Feed Components Nutritive Value		
				% DM	% CP	% TDN
Corn Silage	36.41	47.39%	9.83	27.0%	7.0%	56.0%
Mineral	0.20	0.96%	0.20	100.0%	0.0%	0.0%
Salt	0.02	0.10%	0.02	100.0%	0.0%	0.0%
Urea	0.10	0.50%	0.10	99.0%	281.0%	0.0%
Dried Citrus Pulp	1.09	4.50%	0.93	85.8%	6.9%	79.8%
Soybean Meal	4.32	18.63%	3.86	89.5%	54.0%	81.4%
Corn	6.58	27.92%	5.79	88.0%	9.4%	82.0%
TMR	48.73		20.7	42.58%	17.72%	68.19%
			-1.1	-2.22	+1.02	-2.41

Nuova Razione comporta una stima di riduzione a **26 kg** Latte/giorno

ESEMPIO DI CONSEGUENZA DI VARIABILITA': SILOMAIS

FOSS

100 capi in lattazione – 3.000 kg latte/giorno
**Se perdiamo 4 kg/capo/g di produzione avremo
– 400 kg latte/gg/azienda in meno!**

**Analisi foraggio tramite laboratorio esterno
comporta tempi fino a 7 giorni e dato
retrospettivo**

**Soluzione: disporre di analisi rapide, accurate e
frequenti**



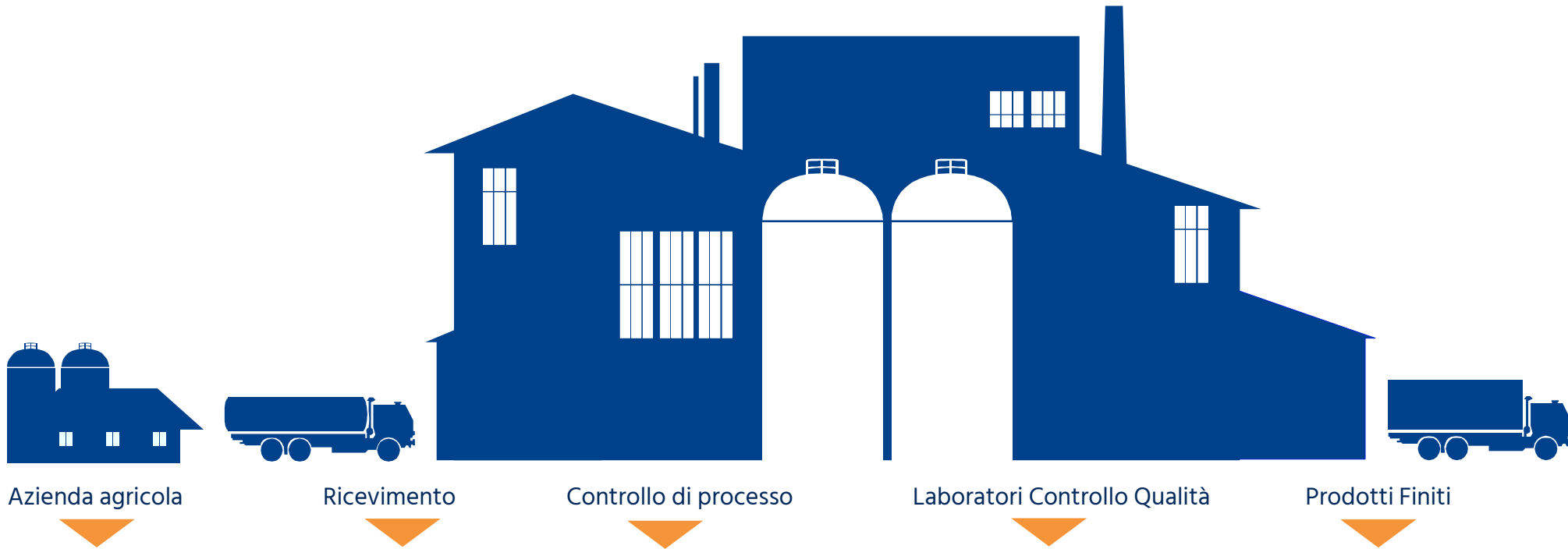
NECESSITÀ DI CONTROLLO SU TUTTA LA FILIERA

FOSS

Materie prime
Pagamento, segregazione e
Controllo qualità

Processo produttivo
ottimizzazione della ricetta e
correzione continua

Prodotto finito
Prodotto conforme e
personalizzato



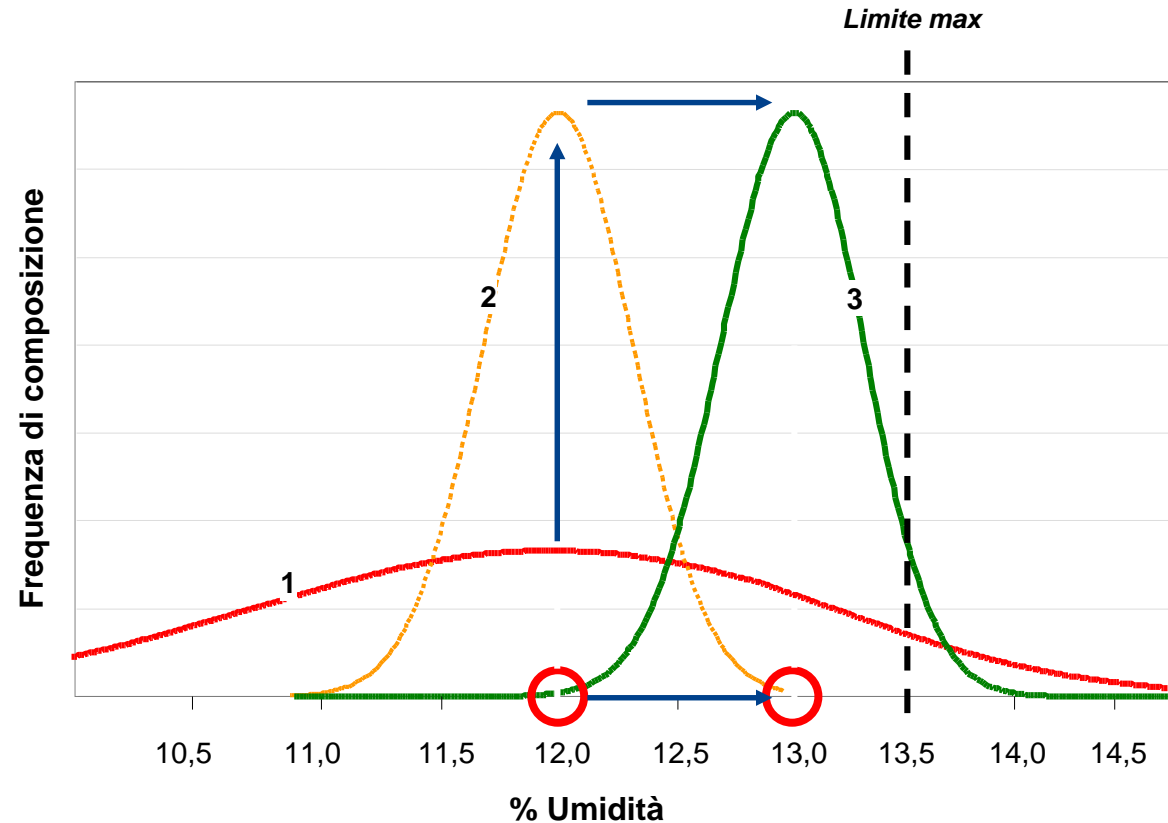
GESTIONE DEI DATI CENTRALIZZATA

CONTROLLO E AUTOMAZIONE

CONTROLLO ANALITICO DELLE DEL PROCESSO PRODUTTIVO E DEL PRODOTTO FINITO

FOSS

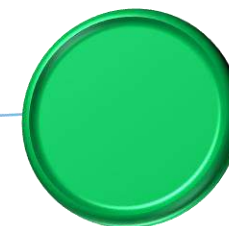
L'analisi rapida ed accurata consente una produzione più vicina ai limiti delle proprie specifiche, fornendo così un aumento del rendimento e il miglioramento della qualità del prodotto finale.



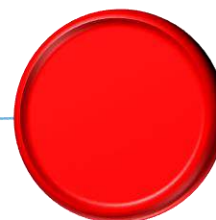
QUALI SOLUZIONI ANALITICHE ?

FOSS

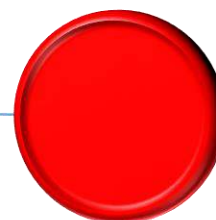
Tradizionali/Primarie



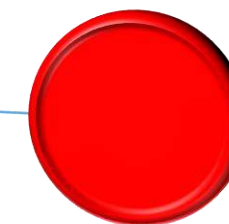
Metodo di
riferimento



Tempi
lunghi



Uso di reagenti
pericolosi

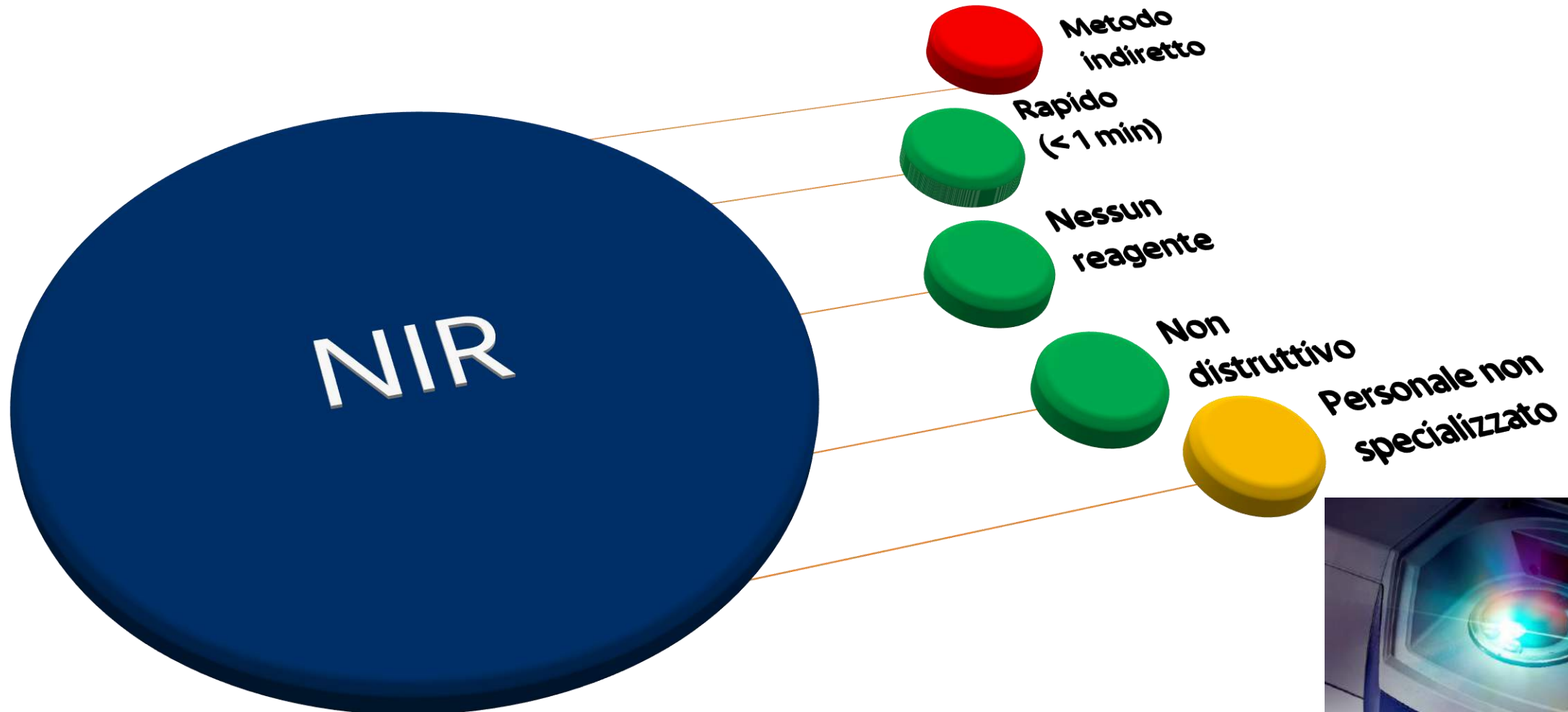


Personale
specializzato

QUALI SOLUZIONI ANALITICHE ?

FOSS

Rapide indirette



QUALE SOLUZIONE NIR ?

FOSS

Portatile ?

Da laboratorio ?



Probabilmente servirebbero
entrambe.....

Ma i dati devono essere affidabili

Accuratezza

Interferenza ambientale

Campionamento

Robustezza

EVOLUZIONE TECNOLOGIA NIR FOSS NEGLI ULTIMI 20 ANNI

FOSS



**NIRSYSTEM
5000/6500**

INFRA XACT

XDS RCA

DS 2500



Passaggio dai filtri al Monocromatore



Sistema NIR post-dispersivo



Primo NIR passo a 0,5nm

FOSS NIR DS 2500 – 2500F

TECNOLOGIA NIR DI ULTIMISSIMA GENERAZIONE

PRESTAZIONI OTTICHE IMPAREGGIABILI

Range da 400 – 2500 nm & 850 – 2500 nm nella versione F (feed)



FOSS NIR DS 2500 – 2500F

FOSS

PRINCIPALI CARATTERISTICHE – FONDAMENTALI PER L'INDUSTRIA MANGIMISTICA

- analizzatore NIR con tecnologia **Monocromatore** – opera in riflettanza (solidi e semisolidi) e trasflettanza (liquidi)
- **Risoluzione 0,5 nm**
- **Doppio detector**
 - 400 (850) -1100 Si detectors
 - 1100-2500 PbS detectors
- **IP 65:** Robusto, adatto anche per ambienti difficili - temperatura; umidità; vibrazione; polvere



FOSS NIR DS 2500 – 2500F

FOSS

PRINCIPALI CARATTERISTICHE FONDAMENTALI PER L'INDUSTRIA MANGIMISTICA

- **Standardizzato alla fabbrica**

Gli strumenti vengono prodotti con grande precisione per mezzo di standardizzazioni hardware effettuate direttamente in fabbrica.



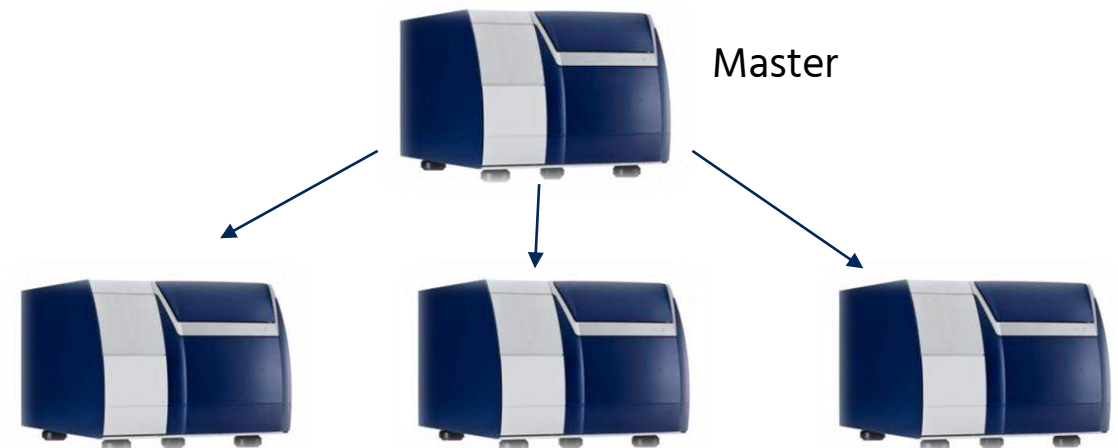
- **Standards interni** per controllare la stabilità dello strumento



- **Compatibile** per trasferire le calibrazioni NIR esistenti da precedenti strumenti (NIRS System II, InfraXact; XDS)

trasferimento lineare delle calibrazioni tra diversi NIR DS2500 riducendo perciò al minimo i costi di sviluppo.

Nessuna necessità di dispendiosi processi di standardizzazione che implicano l'uso di campioni reali



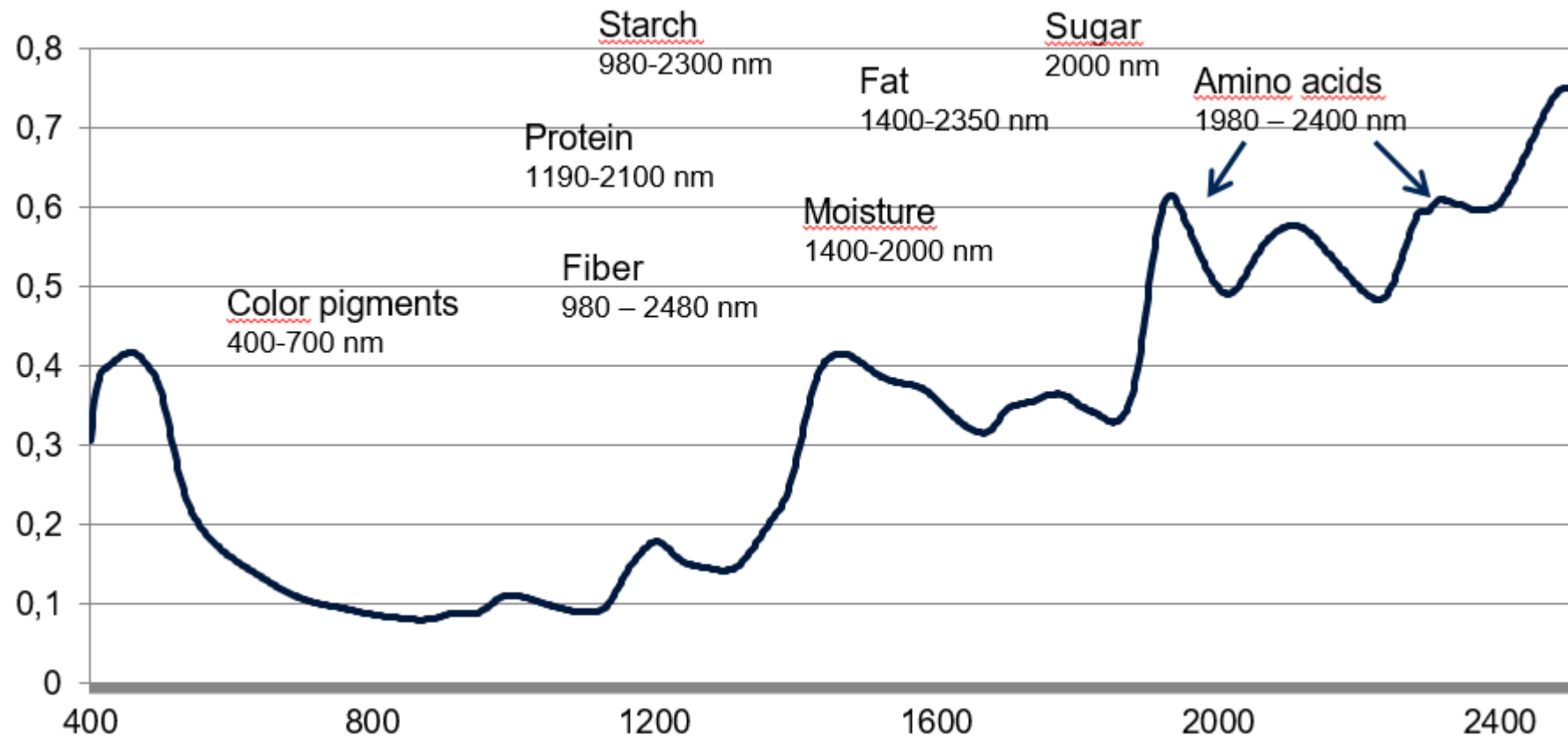
FOSS NIR DS 2500 – 2500F

PRINCIPALI CARATTERISTICHE **RAPPORTO SEGNALE RUMORE S/N**
VANTAGGI DI UN ELEVATO RAPPORTO SEGNALE RUMORE S/N

FOSS

Il Rapporto **(S/N)** pr uno strumento è fondamentale per l'**accuratezza**.

Permette di predire **macro e micro** parametri con elevata ed analoga accuratezza!
Indipendentemente dalle lunghezze d'onda in questione

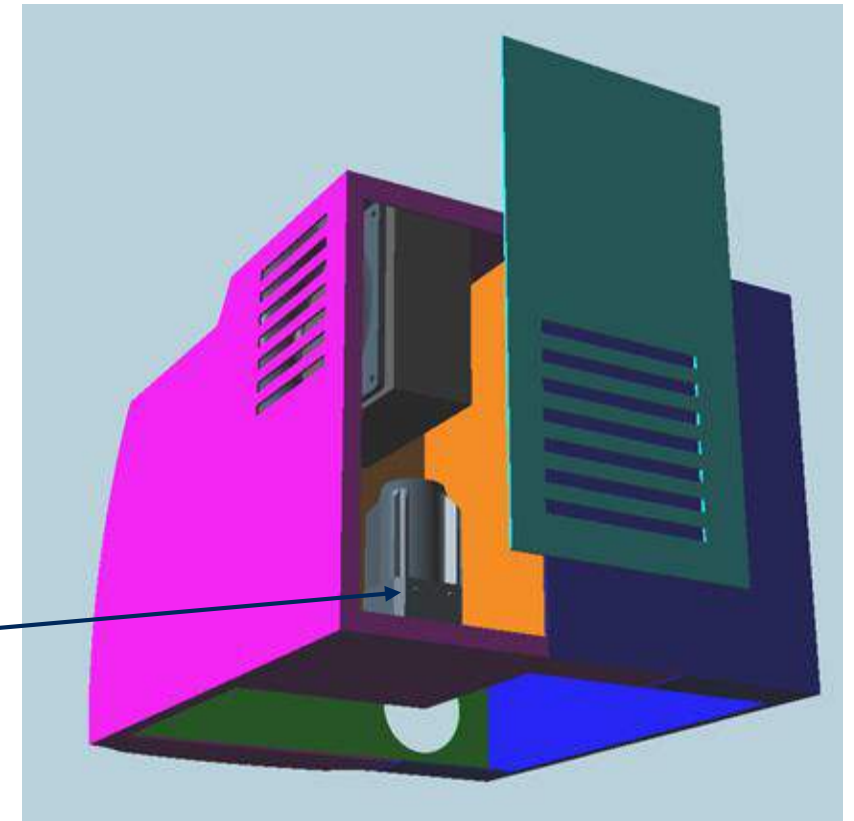


FOSS NIR DS 2500 – 2500F

FOSS

PRINCIPALI CARATTERISTICHE FONDAMENTALI PER L'INDUSTRIA MANGIMISTICA

- **Elevato Rapporto Segnale/Rumore S/N**
- Rapporto S/N è fortemente influenzato dalla stabilità dello strumento.
- NIRS DS2500 stabilità elevata grazie a diversi accorgimenti tra cui:
 - Bassa temperatura del detector
 - elevata stabilità della temperatura della lampada grazie al raffreddamento ad acqua

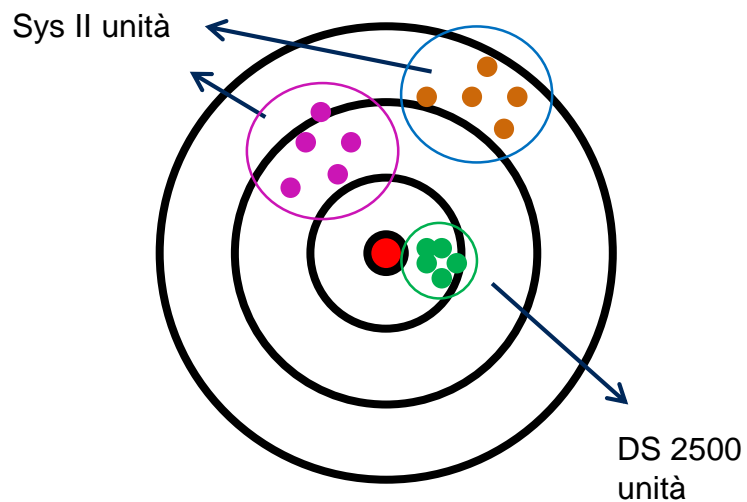


FOSS NIR DS 2500 – 2500F

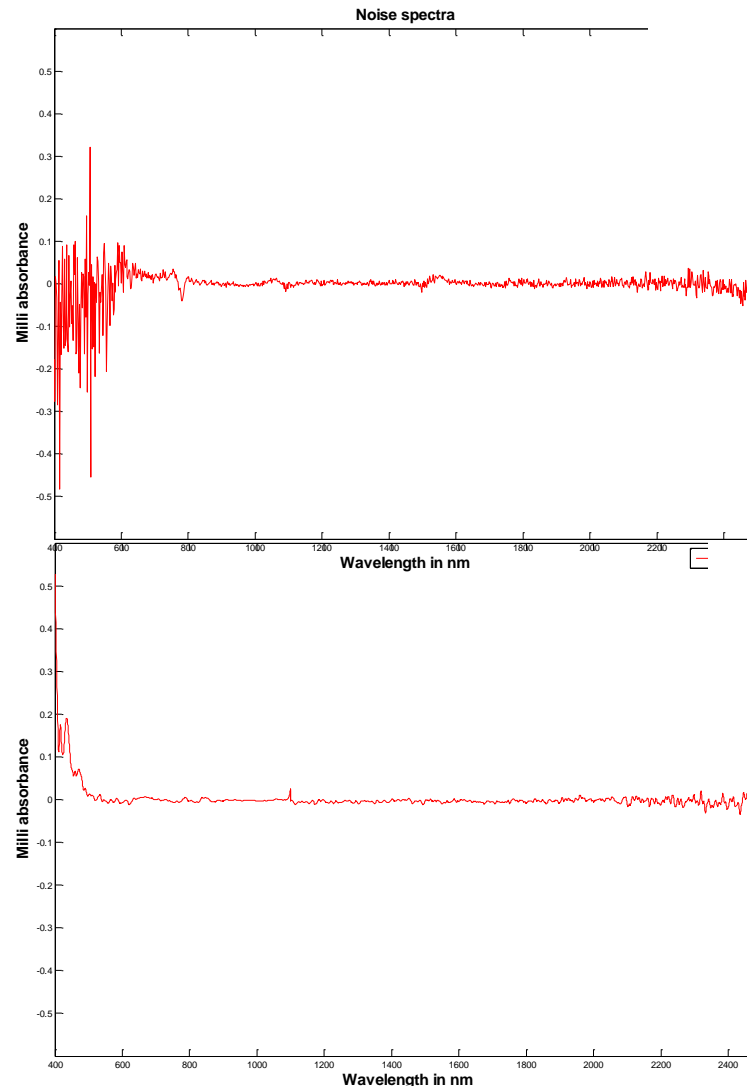
VANTAGGI DI UN ELEVATO RAPPORTO S/N = **ACCURATEZZA**

FOSS

Se uno strumento* NIR fosse un fucile, gli spettri dei campioni potrebbero essere rappresentati come un gruppo di fori vicino al bersaglio (valore dell'analisi di riferimento):



* Ogni colore rappresenta un diverso strumento



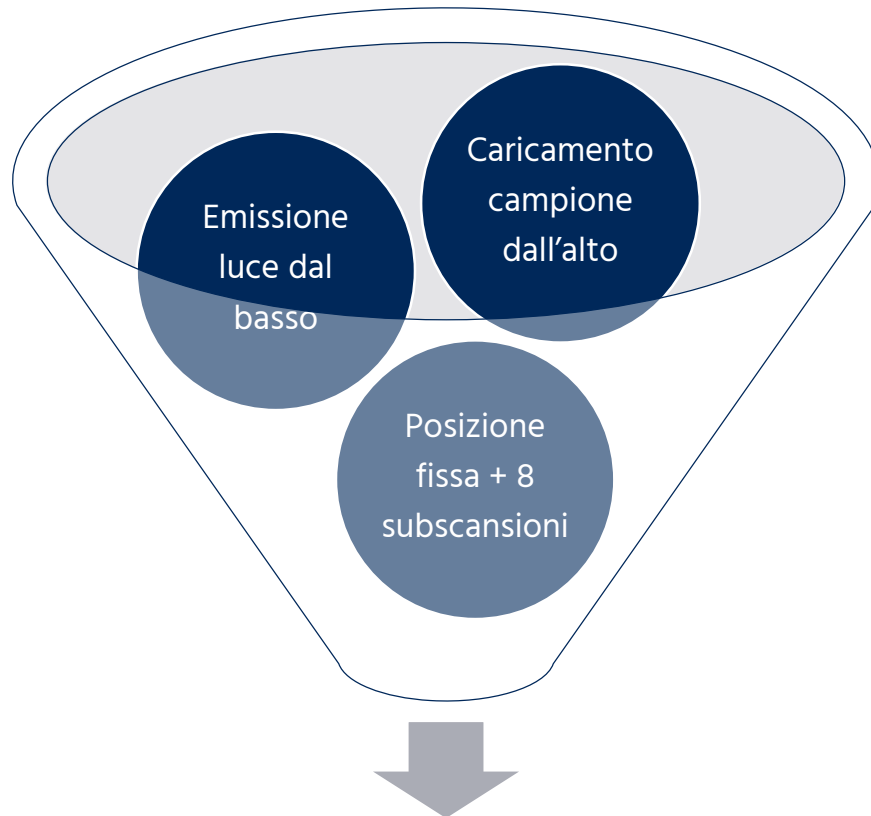
System II

DS2500

FOSS NIR DS 2500 – 2500F

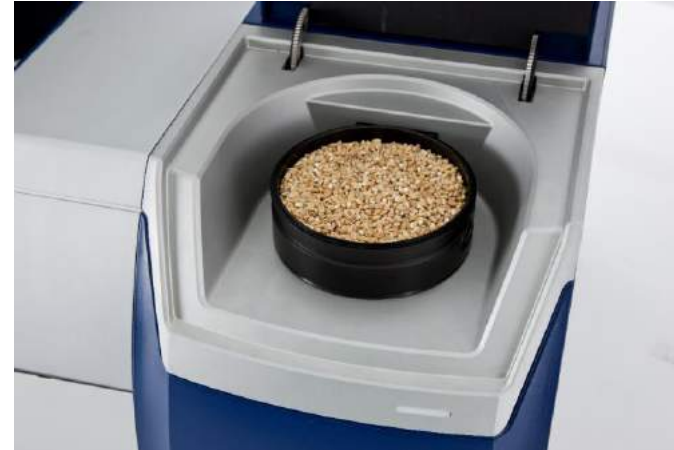
FOSS

PRINCIPALI CARATTERISTICHE



Non è necessario disporre accuratamente il campione in cella.

Nessuna interferenza di luce esterna



FOSS NIR DS 2500 – 2500F PRINCIPALI CARATTERISTICHE

FOSS



Analisi di campioni macinati, non macinati, pellet, granulari, ecc.

FOSS NIR DS 2500 – 2500F

FOSS

COSA ANALIZZIAMO ? INDUSTRIA MANGIMISTICA

CEREALI, OLEAGINOSE, LEGUMINOSE

- Mais
- Grano
- Orzo
- Soia
- Sorgo
- Riso
- Girasole
- Colza
- Semi di Cotone
- Fave, Favino, Pisello
- Luppolo
- Ecc.

FARINE DI ESTRAZIONE

- Soia
- Girasole
- Colza
- Lino

SOTTOPRODOTTI & altre MATERIE PRIME

- Crusca
- Cruschello - Tritello
- Pula
- Buccette di soia
- Farinaccio – Tritello
- Distiller di Frumento-
Mais
- Germe di mais
- Semola Glutinata
- Buccette e Polpe di
Bietola
- Carrube
- Siero, WPC
- Ecc.

MANGIMI

- Bovini
- Suini
- Avicoli
- Conigli
- Allevamenti ittici
- Petfood

FARINE ANIMALI

- Carne
- Ossa
- Sangue

COSA ANALIZZIAMO? PRODOTTI AZIENDALI MATRICI ANALIZZATE

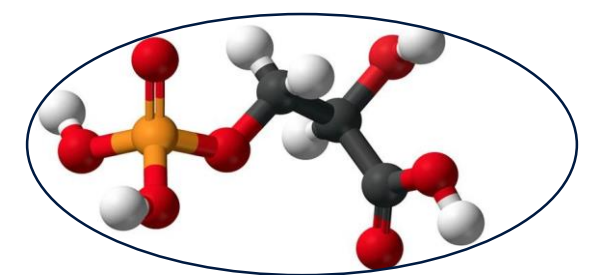
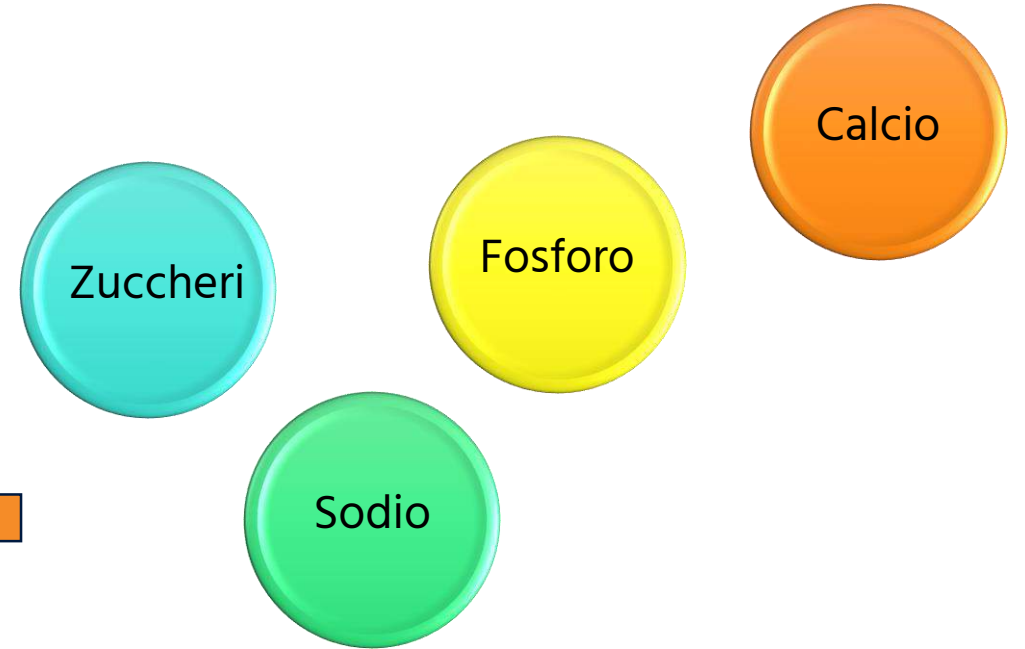
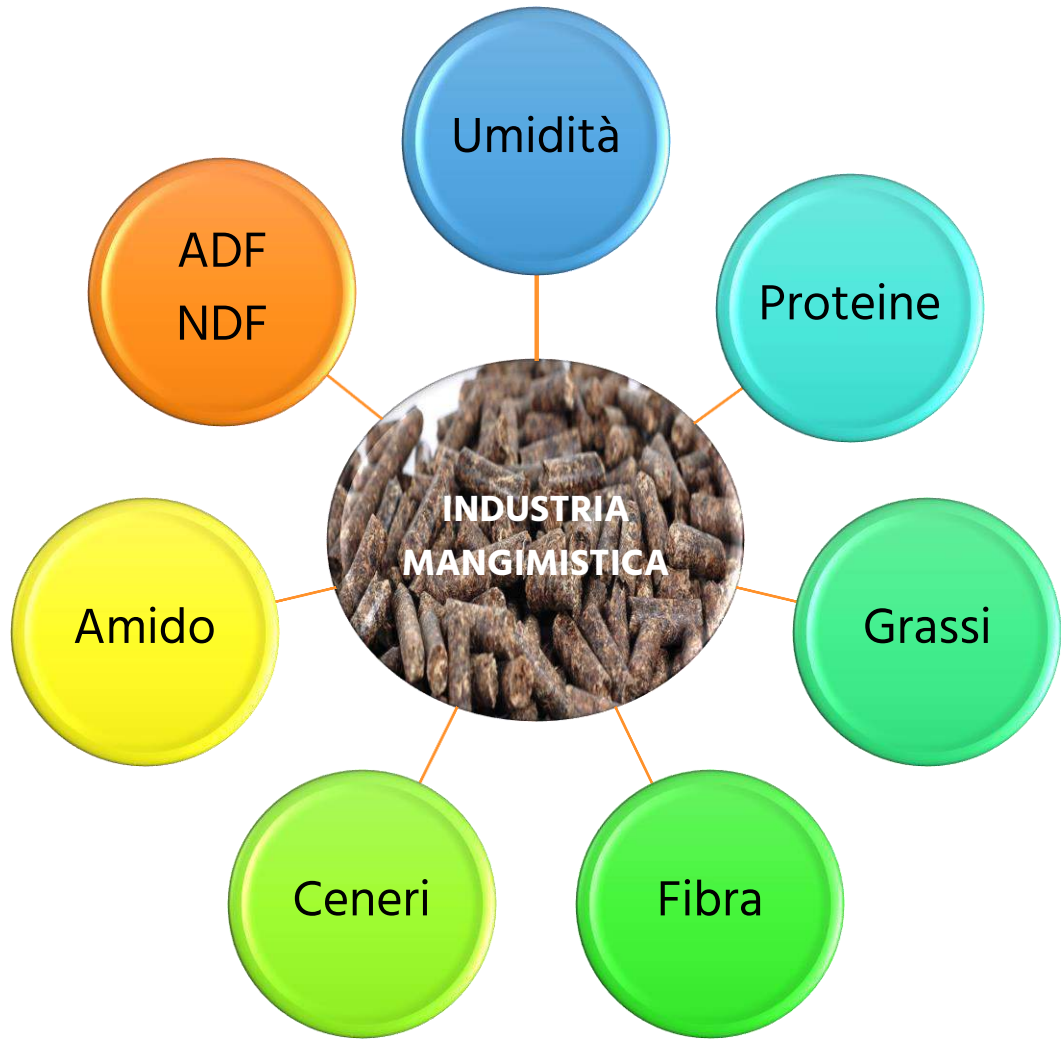
PRODOTTO AZIENDALI

Insilati Vari (Silo Mais,
Silo Sorgo, ecc)

Unifeed
Pastone di Mais

Fieni
Erba Medica (TQ, in
pellet e fieno)

FOSS NIR DS 2500 – 2500 F PARAMETRI ANALITICI



AMMINOACIDI

FOSS

FOSS NIR DS 2500 – 2500 F

PARAMETRI ANALITICI

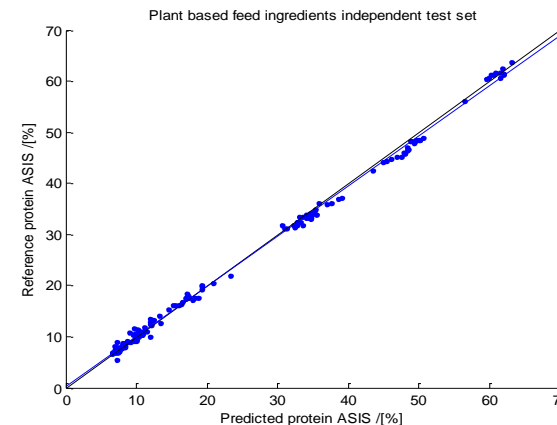
FOSS



FOSS NIR DS2500 – 2500F CALIBRAZIONI DISPONIBILI

- ▶ FOSS **ANN** F&F calibrazioni pronte all'uso
- ▶ FOSS PLS calibrazioni locali
- ▶ Calibrazioni di proprietà dell'azienda trasferite dal NIR precedente (sviluppate con WinISI)
- ▶ Calibrazioni fornite dal proprio fornitore di integratori/additivi e altre materie prime per mangimi (come ad es: **Evonik, Adisseo, Nutreco, Neovia, AB Vista**, ecc.)
- ▶ ...o anche tutte assieme!

FOSS



FOSS NIR DS2500 – DS2500F CONNETTIVITA' ATTRAVERSO MOSAIC

FOSS

MOSAIC permette la connettività via internet

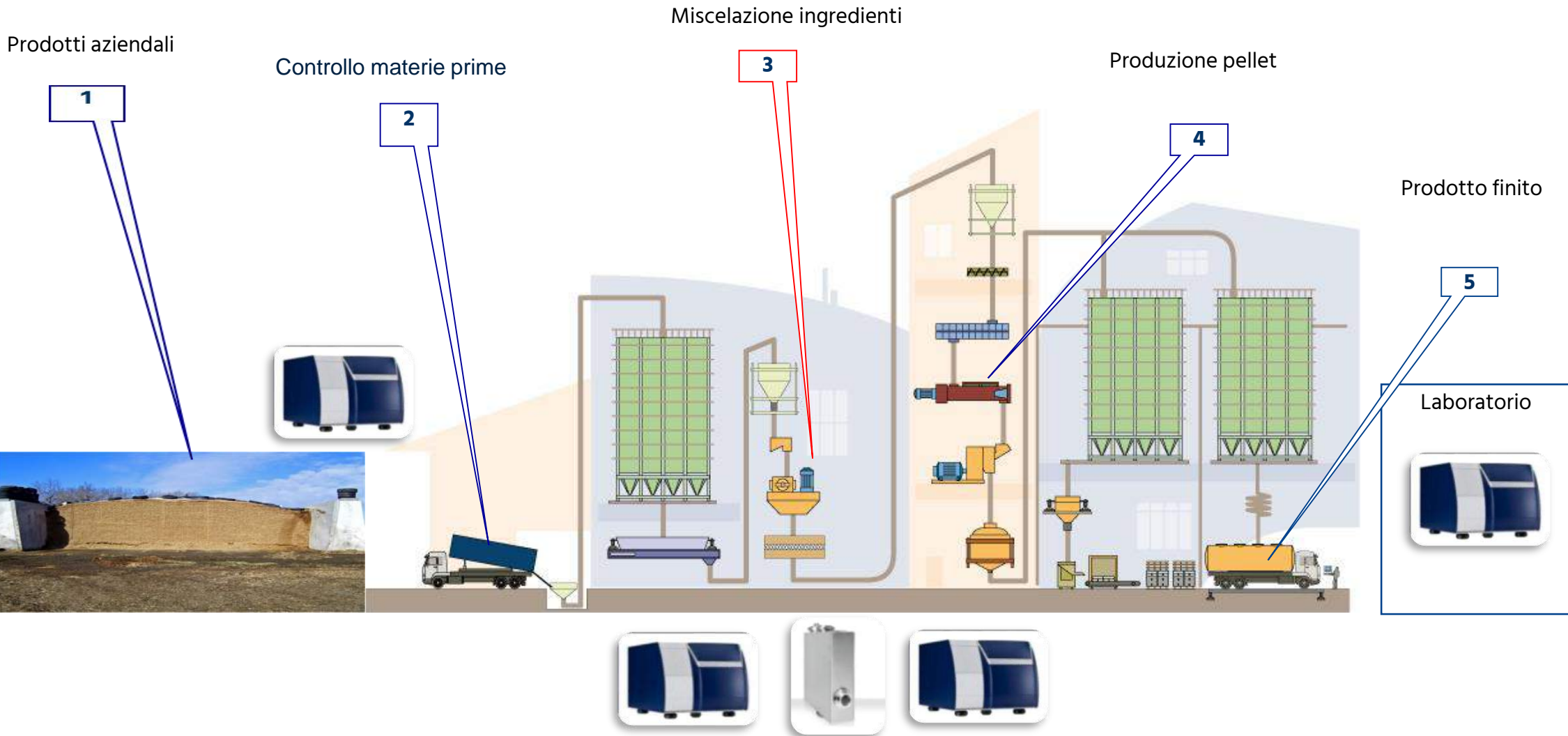
- ▶ Accesso multiplo (più utilizzatori) ed in tempo reale, a tutti i dati di tutti i NIR collegati in rete
- ▶ Configurazione remota e centralizzata per ogni strumento
- ▶ Aggiornamento automatico di calibrazioni e altre impostazioni su tutti i NIR collegati
- ▶ Supporto tecnico e applicativo on line da parte dei tecnici NIR Foss
- ▶ Backups automatici e garantiti
- ▶ Servizi digitali di ultima generazione:
Monitoraggio prestazioni strumentali (Foss Assure™)
Monitoraggio Calibrazioni (Foss Assure™)



SOLUZIONE NIR RAPPRESENTA LA SOLUZIONE IDEALE PER IL CONTROLLO DI TUTTA LA FILIERA

FOSS

No compromessi sulle prestazioni analitiche



FOSS

GRAZIE





Strategic Udder Health Monitoring and Benchmarking based on national SCC data in Germany



Dr. Christian Baumgartner

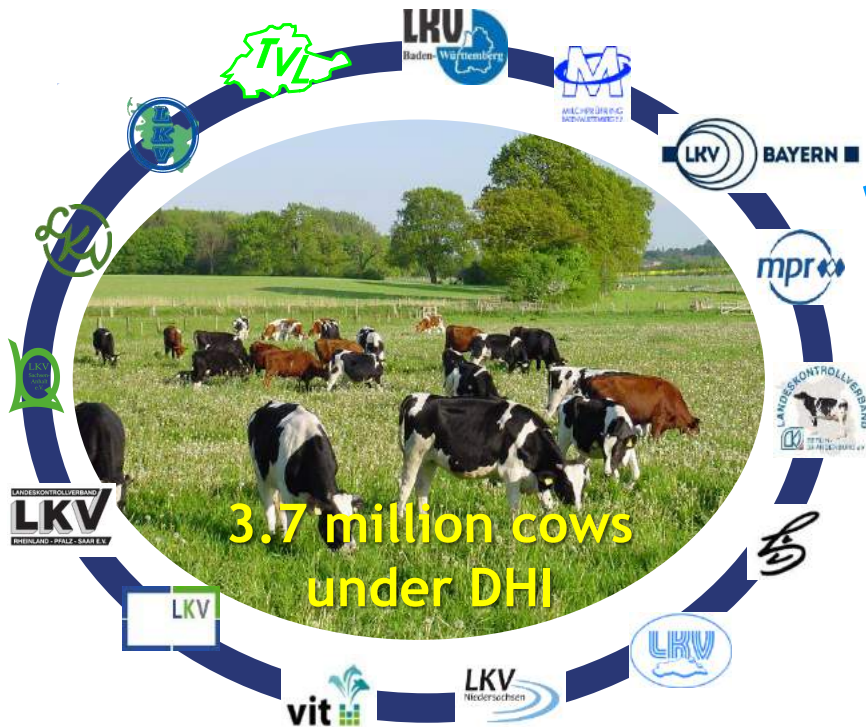
2018

ANALYTICA

14-15 Marzo 2018
UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma



German Udder Health Program



With support from



by decision of the German Bundestag



rentenbank

milch **Q** plus

2012 - 2016

Prof. Dr. Volker KRÖMKER



2016 - 2019

Univ.-Prof. Dr. Marcus G. Doherr

German Udder Health Program

milch **Q** *plus*
2012 - 2016

- New key figures - based on SCC
- DSCC as a new diagnostic tool
- Communication !!!

 **ZellDiX**
2016 - 2019

- Follow-up project for DSCC
- Diagnostic tools for practical use
- Communication !!!

With support from



by decision of the
German Bundestag



rentenbank

Using facts more than „gut instinct“



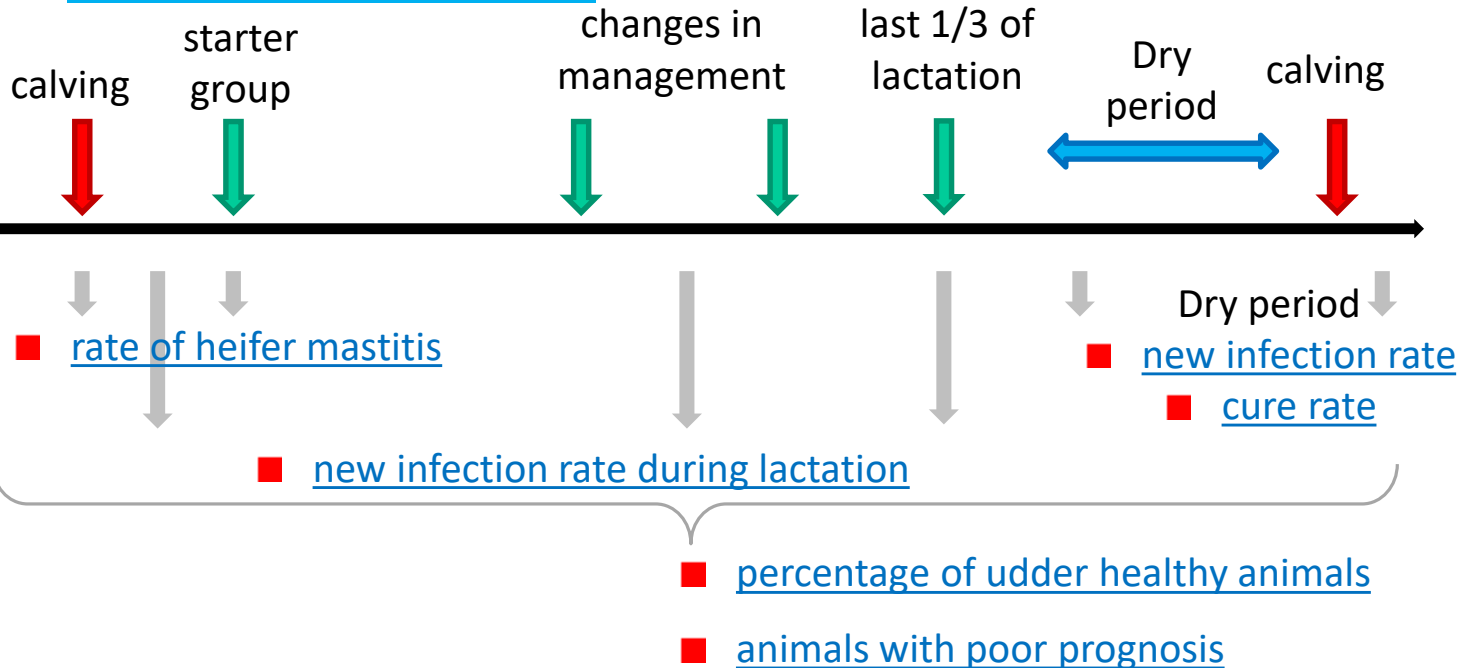
systematic approach?



Risks

Key figures

SCC > 100.000/mL?



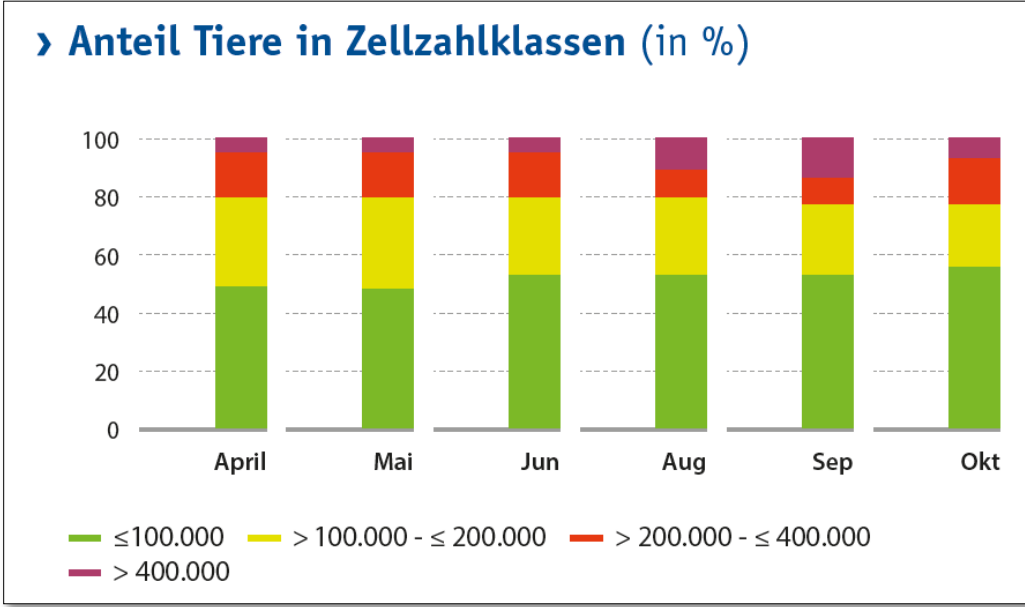
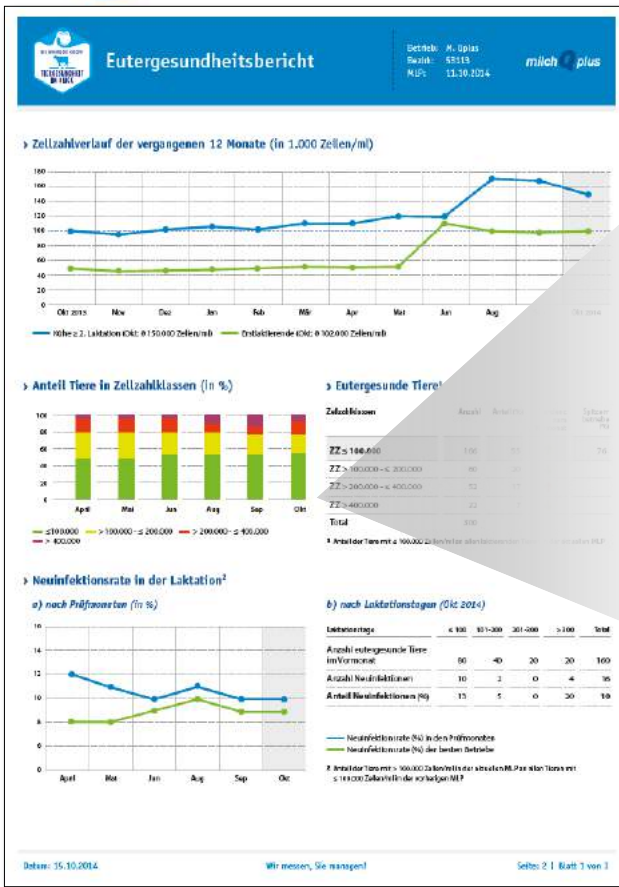
New Udder Health Report

- Key figures are calculated based on SSC in monthly milk yield recording
- Displayed in tables and charts either in a 3 page paper report or online
- For all 48.000 farms under DHI in Germany
- Benchmarking → regional reference values of the 25% best farms are reported for each key figure
- Nationwide standardized and automated calculation (DLQ, 2014)
→ SCC threshold set to 100.000 cells/mL → high sensitivity



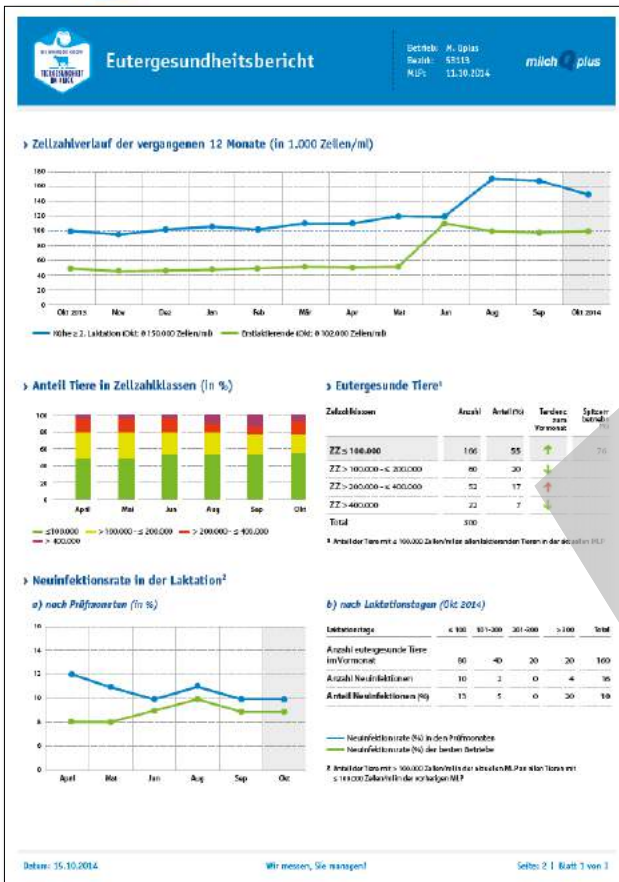


Proportion of cows with healthy udders





Proportion of cows with healthy udders

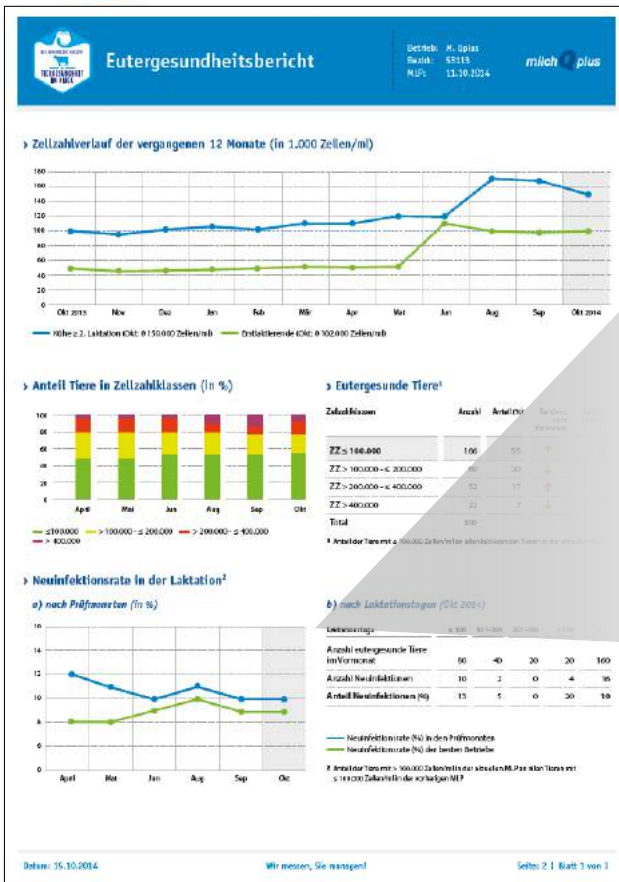


› Eutergesunde Tiere¹

Zellzahlklassen	Anzahl	Anteil (%)	Tendenz zum Vormonat	Spitzenbetriebe (%)
ZZ ≤ 100.000	166	55	↑	76
ZZ > 100.000 - ≤ 200.000	60	20	↓	
ZZ > 200.000 - ≤ 400.000	52	17	↑	
ZZ > 400.000	22	7	↓	
Total	300			

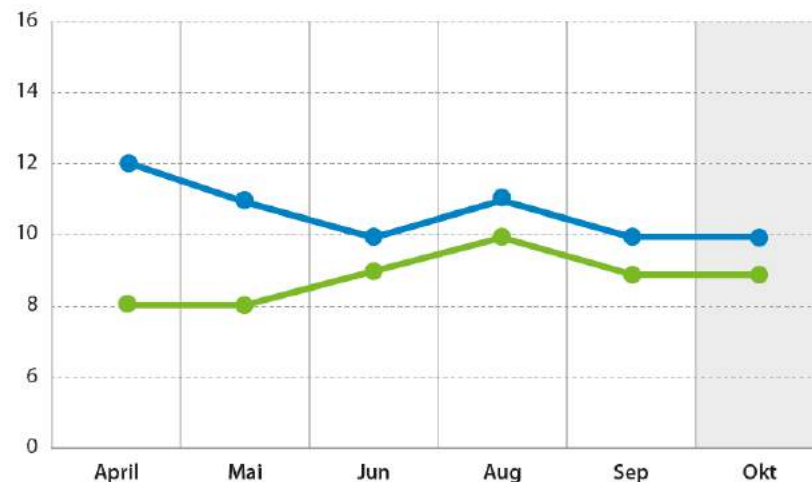
¹ Anteil der Tiere mit ≤ 100.000 Zellen/ml an allen laktierenden Tieren in der aktuellen MLP

New infection rate during lactation



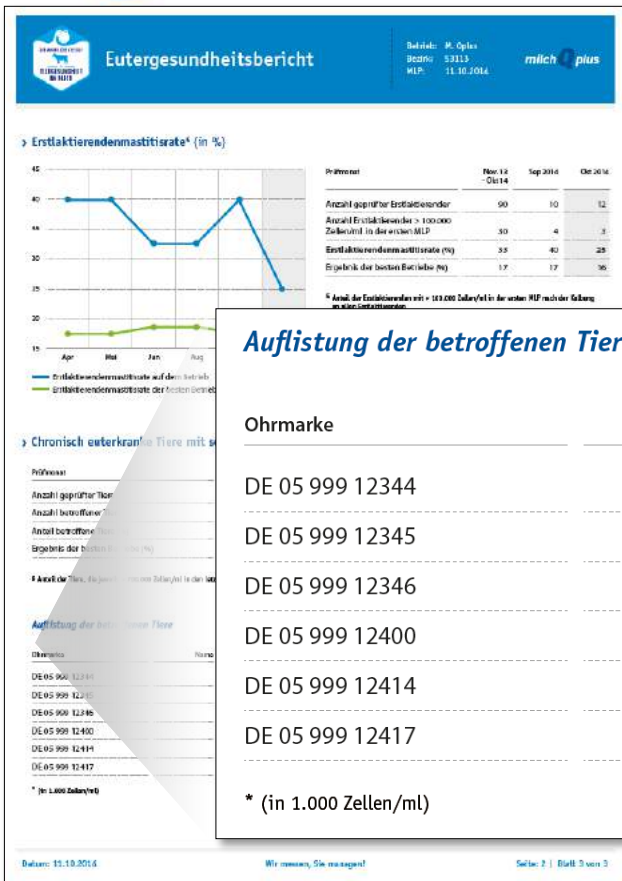
> Neuinfektionsrate in der Laktation²

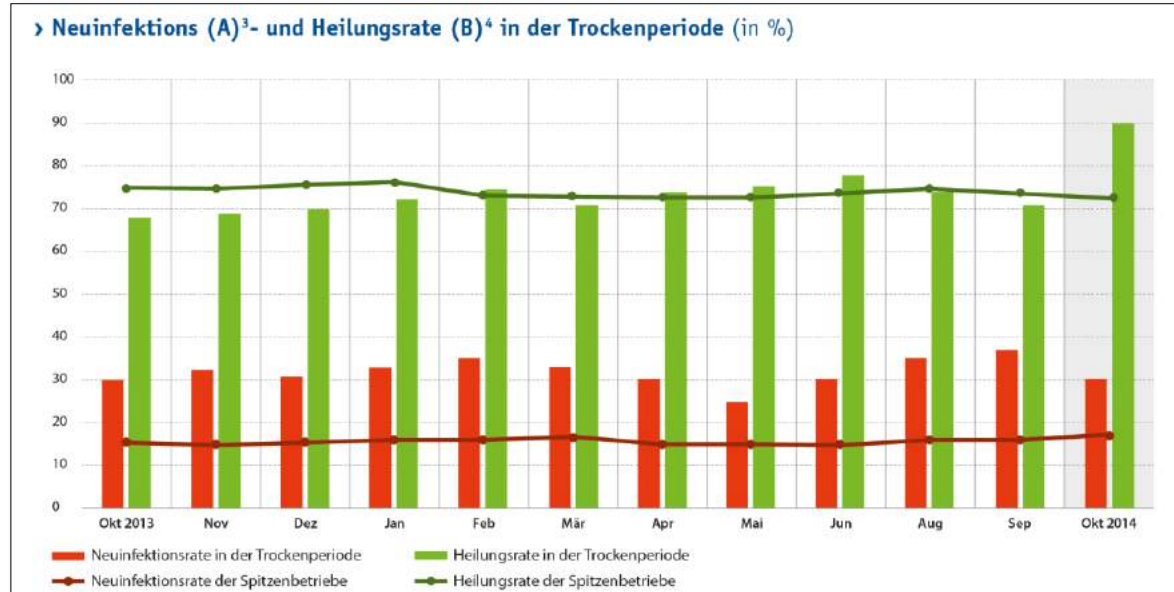
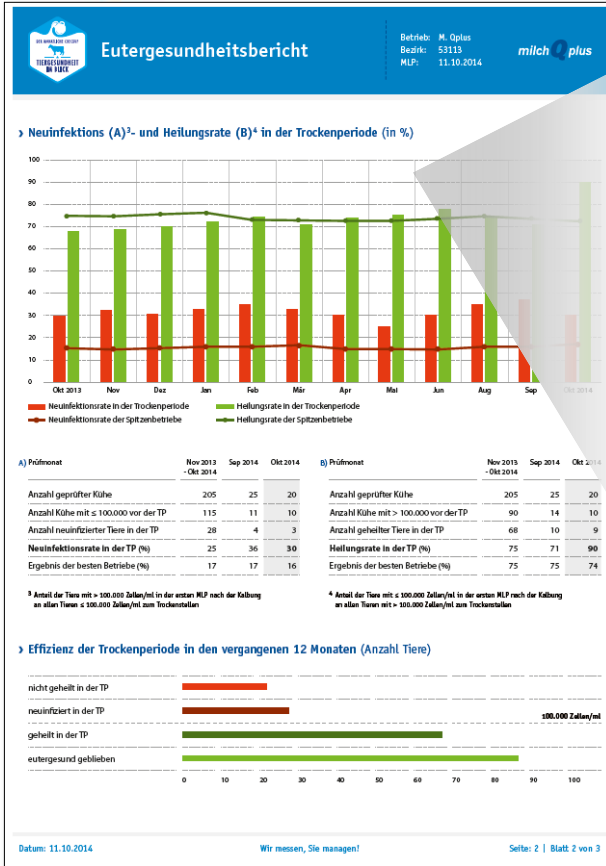
a) nach Prüfmonaten (in %)



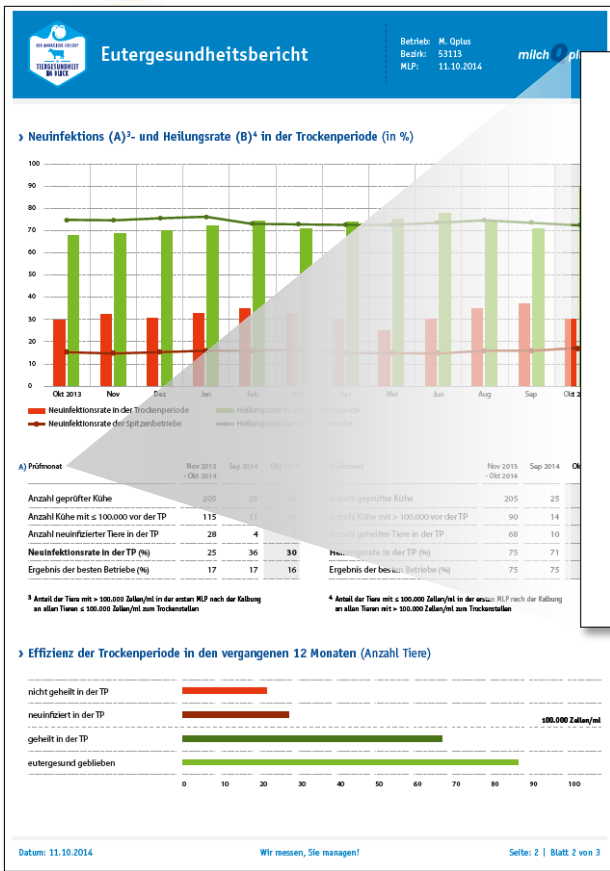
- Neuinfektionsrate (%) in den Prüfmonaten
- Neuinfektionsrate (%) der besten Betriebe

² Anteil der Tiere mit > 100.000 Zellen/ml in der aktuellen MLP an allen Tieren mit < 100.000 Zellen/ml in der vorherigen MLP





Dry cow new infection and cure rate



A) Prüfmonat

Nov 2013
- Okt 2014

Sep 2014

Okt 2014

Anzahl geprüfter Kühe

205

25

20

Anzahl Kühe mit ≤ 100.000 vor der TP

115

11

10

Anzahl neuinfizierter Tiere in der TP

28

4

3

Neuinfektionsrate in der TP (%)

25

36

30

Ergebnis der besten Betriebe (%)

17

17

16

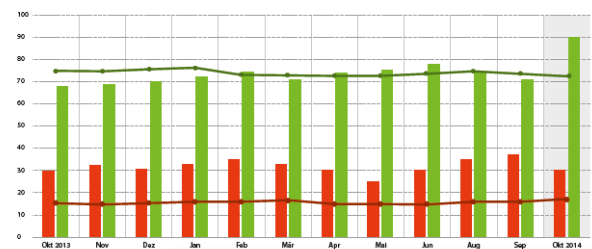


Efficiency of dry period last 12 months

Eutergesundheitsbericht

Betriebsnr.: M. Optus
 Bezirk: 53113
 M.L.P.: 11.10.2014

› Neuinfektions (A)³- und Heilungsrate (B)⁴ in der Trockenperiode (in %)



› Effizienz der Trockenperiode in den vergangenen 12 Monaten (Anzahl Tiere)

nicht geheilt in der TP



neuinfiziert in der TP



geheilt in der TP



eutergesund geblieben



0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100

100.000 Zellen/ml

A) Prüfmonat

Anzahl geprüfter Kühe

Anzahl Kühe mit ≤ 100.000 vor der TP

Anzahl neuinfizierte Kühe in der TP

Neuinfektionsrate in der TP (%)

Ergebnis der besten Betriebe (%)

³ Anteil der Tiere mit ≤ 100.000 Zellen/ml in der TP

⁴ Anteil der Tiere mit ≤ 100.000 Zellen/ml zum Test

› Effizienz der Trockenperiode

nicht geheilt in der TP

neuinfiziert in der TP

geheilt in der TP

eutergesund geblieben

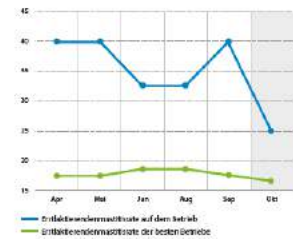
Rate of heifer mastitis

Eutergesundheitsbericht

Betriebs-Nr.: M. Optima
 Betriebs-Nr.: 53113
 MLP: 11.10.2014

milch plus

Erstlaktierendenmastitisrate* (in %)



Prüfungstermin	Nov. 12 Okt. 14	Sept. 2014	Okt. 2013
Anzahl geprüfter Erstlaktierender	90	100	100
Anzahl Erstlaktierende > 100.000 Zellen/ml in der ersten MLP	30	4	1
Erstlaktierendenmastitisrate (%)	33	4	1
Ergebnis der besten Betriebe (%)	17	17	16

* Anteil der Erstlaktierenden mit > 100.000 Zellen/ml in der ersten MLP nach der Geburt an allen Erstlaktierenden

Chronisch erkrankte Tiere mit schlechten Heilungsaussichten⁶

Prüfungstermin	April	Mai	Jun	Aug	Sep	Okt
Anzahl geprüfter Tiere	289	280	300	300	290	306
Anzahl betroffene Tiere	6	0	18	18	6	6
Anteil betroffene Tiere (%)	2	0	6	6	2	2
Ergebnis der besten Betriebe (%)	2	2	1	1	1	1

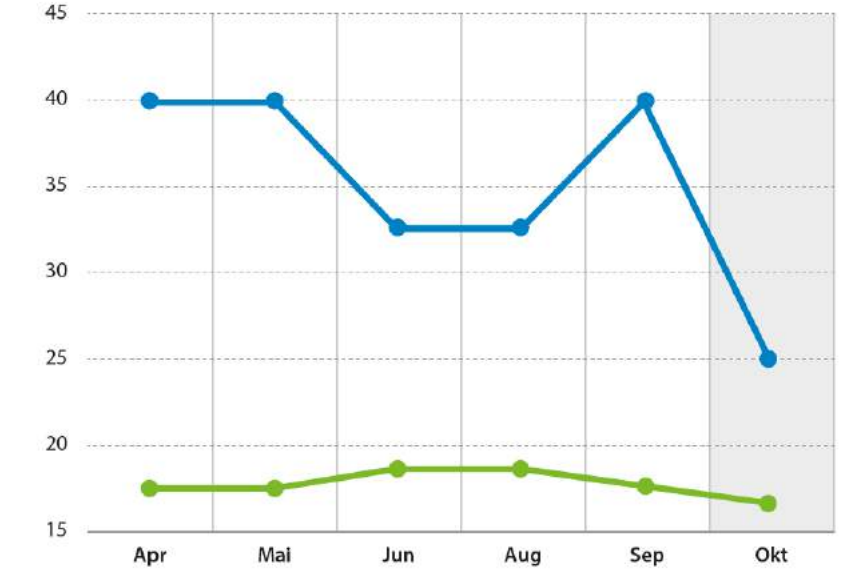
⁶ Anteil der Tiere, die jeweils > 200.000 Zellen/ml in der letzten 5-maligen Milchprüfung (MLP) aufwiesen, an allen laktierenden Tieren der Ferkel

Auflistung der betroffenen Tiere

Ulkernummer	Name	Stalldr.	ZZ/Aug ⁶	ZZ/Sept ⁶	ZZ/Okt ⁶	Lakt-Nr.	Lakt-Tag
DE-05-999-12384		111	772	1.100	1.000	3	254
DE-05-999-12385		112	1.000	779	854	3	225
DE-05-999-12386		113	854	888	965	3	338
DE-05-999-12400		211	714	825	954	3	200
DE-05-999-12414		229	820	589	1.065	2	389
DE-05-999-12417		301	912	790	810	2	365

⁶ In 1.000 Zellen/ml

Erstlaktierendenmastitisrate⁵ (in %)



— Erstlaktierendenmastitisrate auf dem Betrieb
 — Erstlaktierendenmastitisrate der besten Betriebe

⁵ Anteil der Erstlaktierenden mit > 100.000 Zellen/ml in der ersten MLP nach der Kalbung an allen Erstlaktierenden



Key figures as indicators

Low proportion of udder healthy animals?

- General indicator
- Do I have to focus on udder health?

Many animals with poor prognosis?

- Do I have a problem with cow-related pathogens?
- Are culling decisions reasonable?
- How effective is my therapy concept?

How good do my heifers start into lactation?

- Housing hygiene?
- Feeding and supply with vitamins, minerals and trace elements?
- optimally timed transit feeding?
- Calving management?
- Positive are → Separate heifer group, Early mating (age at first calving < 27 months)?
- Negative are → exceeding edema? Early opening of teat canal? Overcrowding? Juvenile suckling?

Strategic monitoring of herd status

- Use as early warning system
- Uncovering of weak points
 - Control of success

Too many new infections during lactation?

- Bedding / housing hygiene?
- Teat condition?
- Milking quality and hygiene?
- Pasture?
- Use of new products?

How good is dry cow management working?

- Bedding / housing / calving hygiene
- Body condition at drying off?
- No antibiotic treatment at drying off, no internal teat sealer?
- Efficiency of therapy at drying off?
- Are culling decisions reasonable?
- Negative are → long re-bedding intervals?, Overcrowding? High milk yield at drying off? Too many animals with poor prognosis?





Fact sheets and checklists

Checkliste „Melkprozess: Zitzenkondition“

Was muss ich tun?

- Rötungsmilch
- Blau
- Gelb
- Weiß
- Blut

Checkliste „Melkprozess: Tierbeobachtungen“

Zur Beurteilung des Melkprozesses ermittelt werden. Die Tiere sollte und geringes Abkicken zeigen.

Checkliste „Melkprozess: Sauberkeitsscore“

Vordrucke Daten, vor allem aber verschmutzte Zitzen und Zitzenstutzen stellen ein Risiko für einfache Bewertungsschema kann die Sauberkeit der Zitze beim Eintritt in den Melkstand Sauberkeit der Liegeboxen und Laufgänge geachtet werden. Auch zu dieser Kot beache Bäume und Futter beitragen.

Viele Neuinfektionen in der Trockenperiode – was tun?

Es zu 60% der deutschen Mastkälber bei Zeit eine herangezogene Gelegenheit zur Mastkälbergen zu vermeiden, da der ist

Melken meine Tiere zu langsam?

Eine zu lange Melkdauer kann die Entstehung von Zitzenkonditionsstörungen begünstigen. Dadurch steigt das Risiko für die Entstehung von Euterentzündungen.

Wie stelle ich fest, ob meine Tiere zu langsam melken?

Für die ersten 10 kg Milch gilt:
Die ersten 10 kg Milch sollten in 5 Minuten ermilken werden. Das heißt, 1 kg Milch der ersten 10 kg wird innerhalb von 30 Sekunden (0,5 Minuten) ermilken.

Für jedes weitere kg Milch gilt:
Jedes weitere Kilogramm Milch soll innerhalb von 12 Sekunden (0,2 Minuten) ermilken werden.

Ein Tier milkt zu langsam, wenn die tatsächliche Melkdauer höher ist als die berechnete Melkdauer.

Rechenbeispiele für 2 Tiere

Beispiel a) tatsächliche Melkdauer = 5 Minuten, Milchmenge = 9 kg
berechnete Melkdauer = $9 \text{ kg} \times 0,5 \text{ Minuten/kg} = 4,5 \text{ Minuten}$
Die tatsächliche Melkdauer ist höher als die berechnete. Das Tier milkt zu langsam.

Beispiel b) tatsächliche Melkdauer = 4,5 Minuten, Milchmenge = 12 kg
berechnete Melkdauer = $10 \text{ kg} \times 0,5 \text{ Minuten/kg} + 2 \text{ kg} \times 0,2 \text{ Minuten/kg} = 5,4 \text{ Minuten}$
Die tatsächliche Melkdauer ist niedriger als die berechnete. Die Melkdauer ist in Ordnung.

Wichtige Ursachen für eine zu lange Melkdauer sind:

- niedriges Melkalkotum
- niedrige Abzahnschwelle
- hohe Verengungszeit
- unzureichende Vorstimulation
- kurze Vakuumphase (= b-Phase)

GENZWERTE

Bei mindestens 10 kg der Tiere muss mindestens eine tatsächliche Melkdauer die berechnete Wert nicht überschreiten.

Rechenfeld Melken

Melkdauer 1/1

www.milchQplus.de



What is the current situation?

- Key figures are calculated for each farm since 2015.
- Training institutions included the work with SCC key figures and factsheets in their program.
- Despite intensive information, key figures are not yet used by farmers and vets on a really broad basis.
- Administrations and politicians are requesting national and regional data, using SCC key figures for fact-based decision making and political discussions.



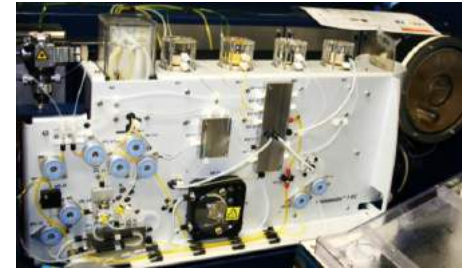
What is coming up next?

- SCC key figures will find their way into practical use as pressure is increasing on dairy farmers and administrations. There is a need to argue fact-based in public debates about animal well-being and animal health protection.
- Within the ZellDiX-project we are working on more key figures using DSCC. This will add value to prudent decision making in herd management and to better evaluation/management of the infection dynamics regarding mastitis.
- We envisage to have practical tools for farm use available in 2019.





Fossomatic 7 DC



Aim is to make the benefits of cell differentiation available for DHI and 48.000 farmers in Germany

Planned time frame: 2016 - 2019

→ mpr: replacement of 12 Fossomatic-units with FM7 DC

Current status → 4 new FM7 DC are integrated into mpr laboratory routine for DHI samples → all other 8 units will be replaced as soon as possible

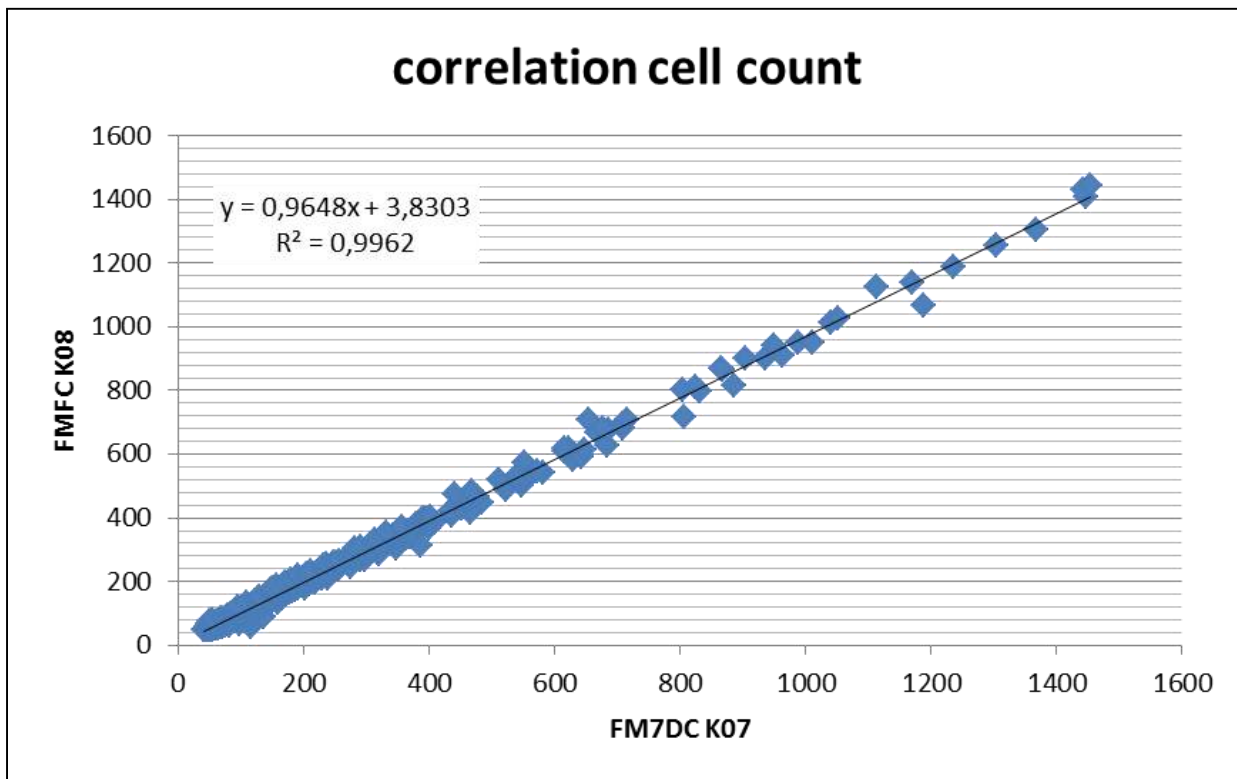
Internal validation of FM 7 DC

- Repeatability (SCC/DSCC) of measurements on two different cell count levels
- Carry-over: from one sample to the next, from one sample to the 13th sample
- Linearity with in house samples
- SCC standard samples
- Comparative measurements > 500 samples on FM FC and FM 7 DC
- Stability of pilot samples throughout one measuring day

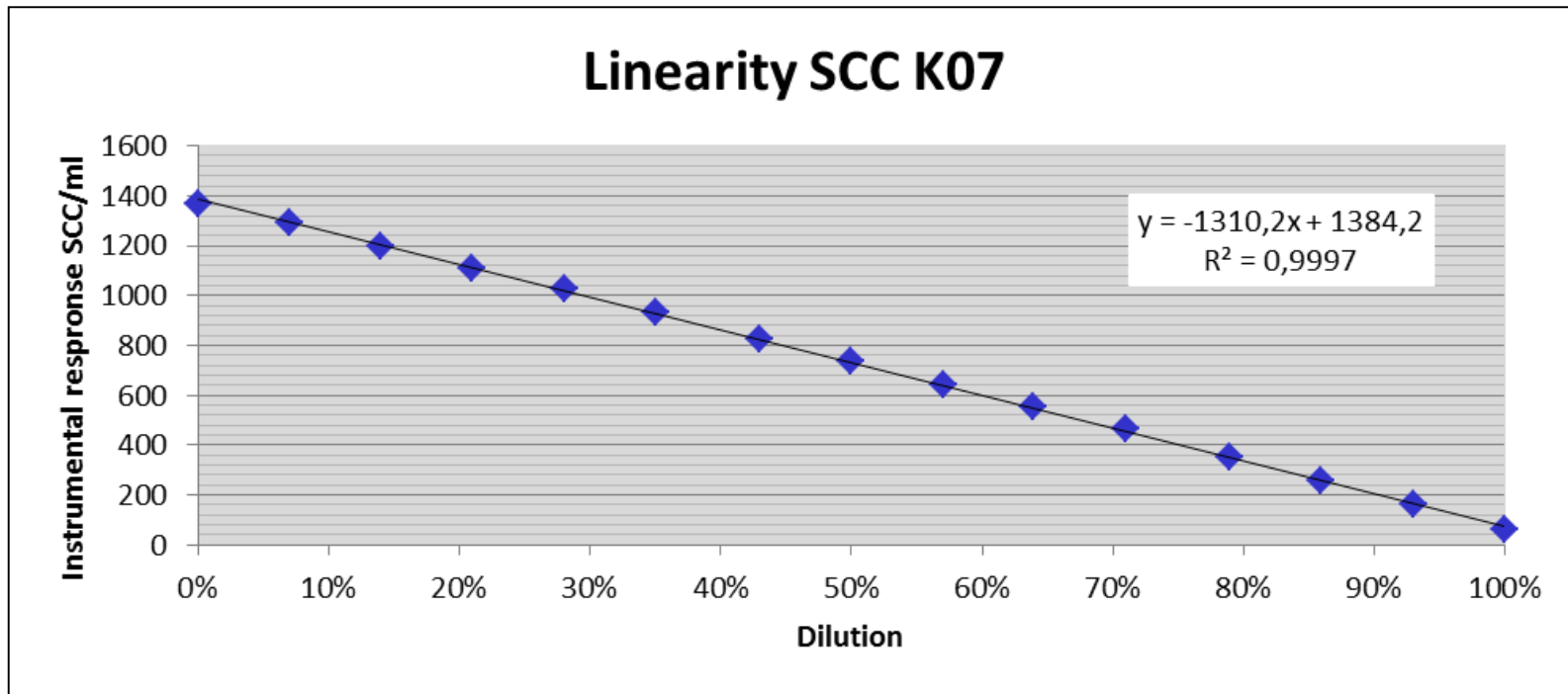
Example → instrument K07

Parameter	Result	Specifications Foss
Repeatability	CV (205,000 SCC/mL) = 3 % Sdw (DSCC) = 1.35 %	CV: <4 % SD: < 3 %
	CV (426,000 SCC/mL) = 2 % Sdw (DSCC) = 0.97 %	CV: <3 % SD: < 3 %
Carry-over	Job in FossIntegrator Carry-over rate = 0 % Carry-over to the 13th channel (12 x milk, 24 x water) = 0 %	< 1 %
Correlation to FM FC	826 samples $R^2 = 0,996$ Overall deviation to FM FC = < 1% Rate of samples with deviation > 20 % = < 2 %	
Linearity with inhouse samples	15 dilution levels, 4 replicates Linearity $r_c = 2.1 \%$	ISO 13366-2:2006 specification $r_c < 2 \%$ (indicative limit)

Example → instrument K07

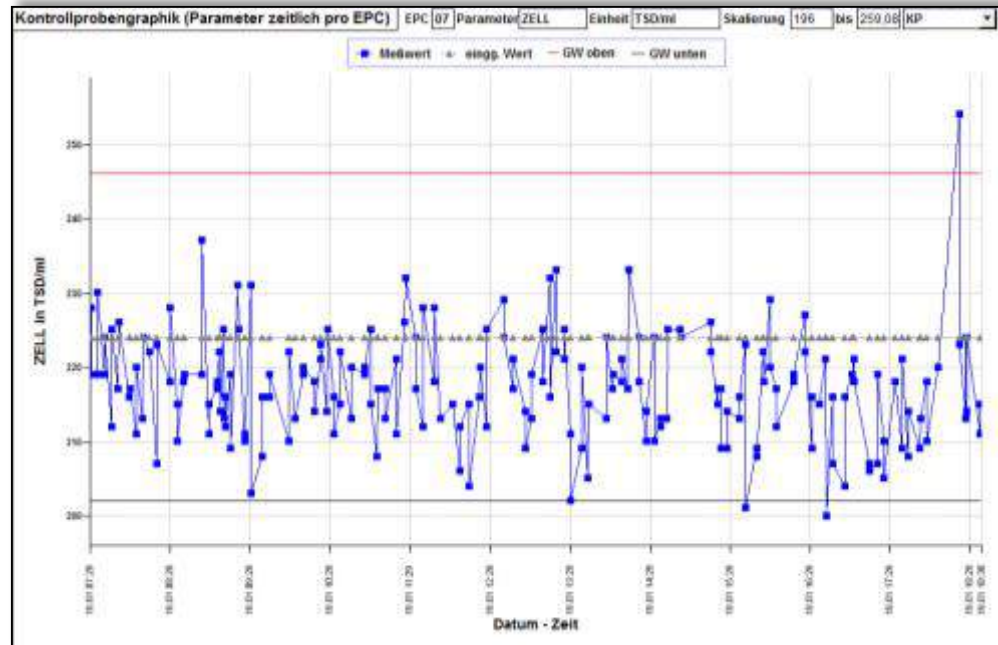


Example → instrument K07



Example → instrument K07

Stability of pilot samples of one day

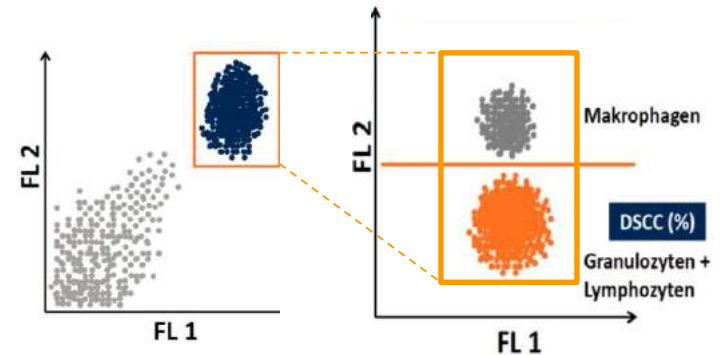
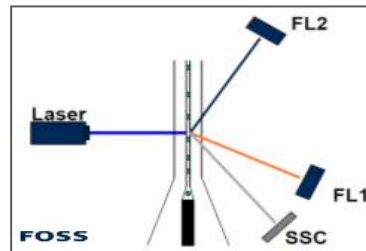




Challenges with FM 7 DC

Keep in mind:

- Completely new method of measuring SCC and DSCC
- Analysis is not comparable to method of FM FC
- Innovation \neq plug and play





Challenges with FM 7 DC

Samples incubate 1 min with dye (12 incubation channels)

- Change of measuring routine
- Necessity to monitor correct function of 12 channels

New dye

- Cells have to be in good condition in order to be dyed and analysed correctly
- Sample quality (storage and transport) is becoming more important for analytical QA



Challenges with FM 7 DC

- Limited access to suitable SCC reference material
→ we are working on that!
- Limitations in the use of preservatives
 - Bronopol 😊
 - Azidiol 😞😡 → Cell count too low
 - Boric acid
- New instrument components have to be checked for durability (innovation ≠ plug and play)



Sabrina.Hachenberg@dlq-web.de



Britta.Behr@dlq-web.de



escharinger@mpr-bayern.de

With support from



by decision of the
German Bundestag



rentenbank



Projekträger Bundesanstalt
für Landwirtschaft und Ernährung



*Genotype **plus** Environment*
Integration for a more sustainable dairy production system

www.gpluse.eu

Biomarkers del latte per la valutazione dello stato sanitario della mammella in vacche ad elevata produzione

Cinzia Marchitelli¹, Federica Signorelli¹, Francesco Napolitano¹, Clément Grelet², Nicolas Gengler³, Frédéric Dehareng², Hélène Soyeurt³, Klaus Lønne Ingvarstsen⁴, Martin Tang Sørensen⁴, Torben Larsen⁴, Mark Crowe⁵ and GplusE consortium*

KBBE.2013.1.1-01: Development and exploitation of genomic data and tools, phenotyping approaches and breeding concepts to sustainable animal production systems

Participant organization name	Country
Schools of Veterinary Medicine and agriculture and food science. University College of Dublin (UCD) (COORDINATOR)	IE
Royal Veterinary College (RVC)	UK
Agri-Food and Biosciences Institute (AFBI)	UK
Faculty of Veterinary Medicine, University of Gent (UGent)	BE
Faculty of Veterinary Medicine, University Utrecht (UU)	NL
Aarhus University (AU)	DK
Consiglio per la Ricerca in agricoltura e l'analisi in Economia Agraria (CREA)	IT
Irish Cattle Breeding Federation Society Ltd (ICBF)	IE
Huazhong Agricultural University (HZAU)	CN
Service EAAP srl (S-EAAP)	IT
Unifarm	BE
Videncentret for Landbrug (KCA)	DK
University of Missouri, Animal Science Research Center (MU)	USA
University of Liège, Gembloux Agr-Bio-Tech (ULg-Gx) University of Liège, Faculty of Veterinary Medicine (ULg-FVM)	BE
Walloon Agricultural Research Centre (CRA-W)	BE
Leibniz Institute for Farm Animal Biology - FBN Dummerstorf	DE
SimHerd, Niels Pedersens Allé 2, 8830 Tjele (SimHerd)	DK

Genotype and **E**nvironment contributing to the sustainability of dairy cow production systems through the optimal integration of genomic selection and novel management protocols based on the development and exploitation of genomic data and supporting novel phenotyping approaches.

Duration: 60 months

Total estimated eligible cost: 11,607,551.40 euro

Total requested EU contribution: 8,997,235.00 euro

Gpluse aims to identify those genotypes that control biological variation of the important phenotypes of dairy cows, to appreciate how these are influenced by environmental and management factors, and thus to allow more informed and accurate use of Genomic Selection (GS).

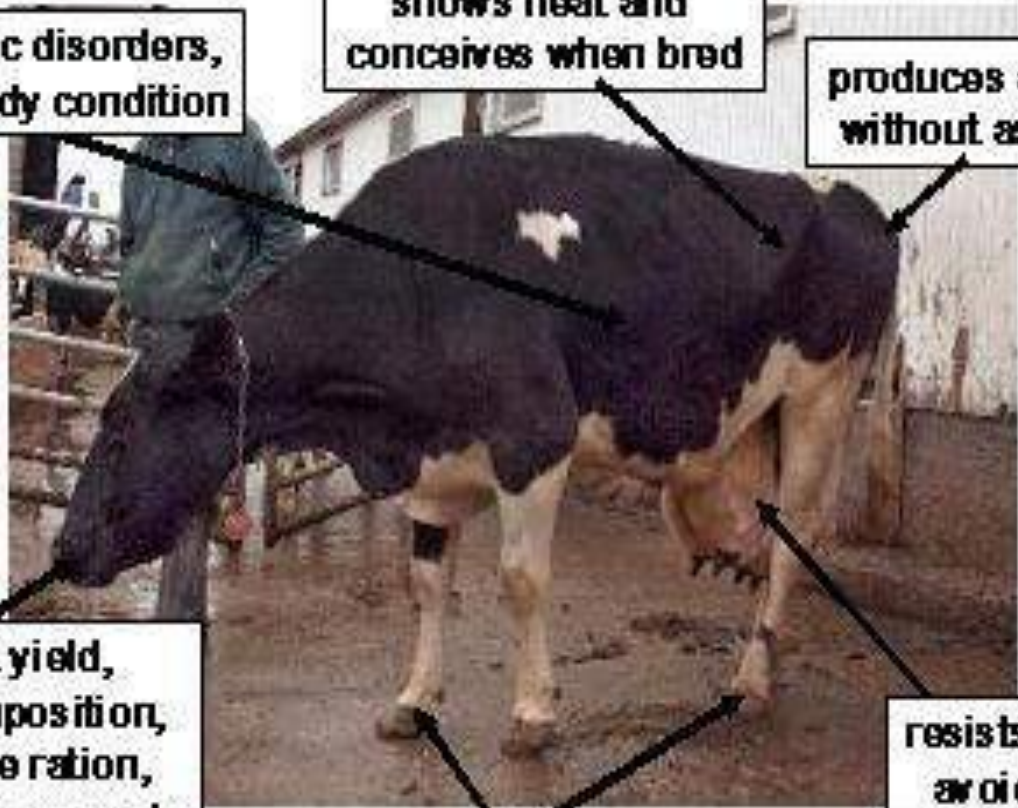


The Perfect Cow

few metabolic disorders,
maintains body condition

shows heat and
conceives when bred

produces a live calf
without assistance



high milk yield,
correct composition,
inexpensive ration,
low maintenance costs

resists mastitis,
avoids injury

walks and stands comfortably,
rarely needs trimming



What are functional traits?

❖ The **ICAR*** Functional Traits Working Group currently is working on:

❖ General health traits

❖ Female fertility

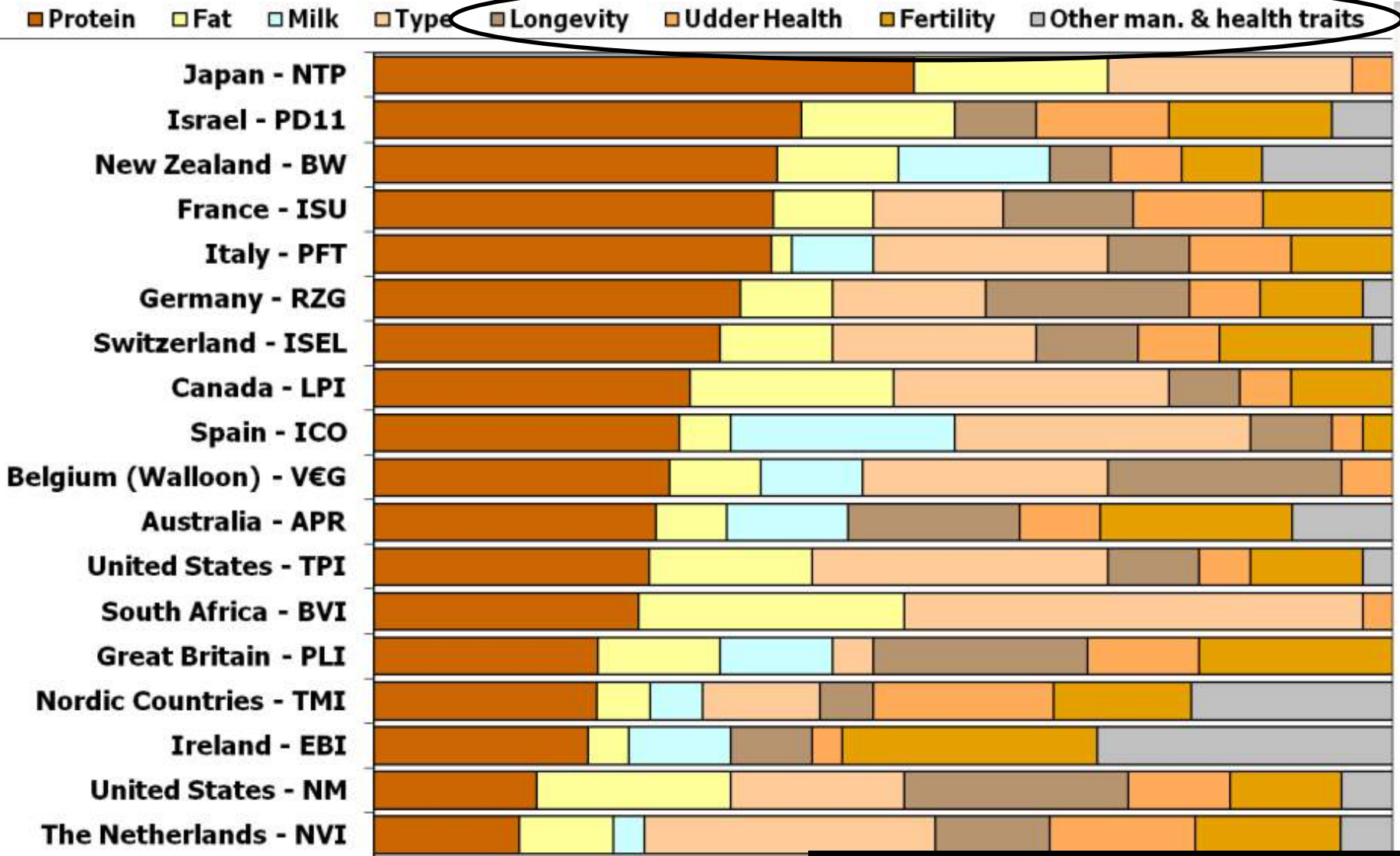
❖ Feet and legs problems

❖ Udder health

❖ Workability

*International Committee for Animal Recording

Functional traits are being used



Source: Miglior et al., 2012

GplusE vs functional traits

Milk biomarkers include metabolites, mastitis parameters, hormones, glycan profile and infrared spectra obtained using the MIR technology.

The biomarkers measured in milk will be compared with the production, health and welfare traits observed in the same animals.

A potential biomarker will be identified as a valid when an observed trait can be predicted with good precision from that particular biomarker measured in milk.



1. Materials and methods

Country	N° COW	N° MILK SAMPLES
AFBI	21	79
AU	14	56
CRAITA	45	173
CRAW	31	121
FBN	13	43
UCD	38	151
TOTAL COW	162	623

PARITY	Country						TOTAL cows
	AFBI	AU	CRAITA	CRAW	FBN	UCD	
FIRST	6	2	7	13	1	3	32
SECOND	2	9	15	9	3	11	49
≥THIRD	13	3	23	9	9	24	81
TOTAL cows	21	14	45	31	13	38	162

PARITY	Country						N° MILK SAMPLES
	AFBI	AU	CRAITA	CRAW	FBN	UCD	
FIRST	22	8	31	52	4	12	129
SECOND	8	36	58	34	9	44	189
≥THIRD	49	12	84	35	30	95	305
N° MILK SAMPLES	79	56	173	121	43	151	623

DAY POST PARTUM	Country						N° MILK SAMPLES
	AFBI	AU	CRAITA	CRAW	FBN	UCD	
7±3	20	14	42	29	9	37	151
14±3	21	14	43	30	11	38	157
21±3	20	14	44	31	12	38	159
35±3	18	14	44	31	11	38	156
N° MILK SAMPLES	79	56	173	121	43	151	623

SEASON	Country						N° MILK SAMPLES
	AFBI	AU	CRAITA	CRAW	FBN	UCD	
SPRING	0	0	65	33	15	80	193
SUMMER	1	0	50	59	12	0	122
AUTUMN	78	54	5	5	7	0	149
WINTER	0	2	53	24	9	71	159
N° MILK SAMPLES	79	56	173	121	43	151	623

2. Materials and methods

Milk recording
milk
protein
fat
lactose
SCC

Protocols of milk standard laboratory

Milk metabolite
Glu6P
GluFree
BOHB
IsoC
Urea
NAGase
Uric acid
Progesteron

Protocols of Larsen, 2005; Larsen and Nielsen, 2005; Chagunda et al, 2006; Larsen and Moyes, 2010; Larsen 2014

MIR DATA	
C4:0	SAT
C6:0	MONO
C8:0	POLY
C10:0	INSAT
C12:0	SCFA: C4 to C10
C14:0	MCFA : C12 to C16
C14:1 cis	LCFA : C17 and more
C16:0	iso + anteiso
C16:1 cis	omega 3
C17:0	omega 6
C18:0	ODD
Tot18_1trans	Total_Trans
C18:1 cis9	Total_C18_1
Tot18_1cis	BHB
Tot18_2	Acetone
C18_2c9c12	Citrates
C18_3c9c12c15	Na
C18_2c9t11	Ca
SAT	P
MONO	Mg
POLY	K
INSAT	Lactoferrin

Fourier transform mid-infrared (FT-MIR) spectroscopy according to Soyeurt et al, 2009, 2011, 2012; Grelet et al , 2016

3. Materials and methods

Statistical analysis

SCC class	Country						N° MILK SAMPLES
	AFBI	AU	CRAITA	CRAW	FBN	UCD	
low ($\leq 100,000$)	74	43	81	69	24	122	413
medium ($101,000 \leq X \leq 400,000$)	4	11	56	30	6	16	123
high ($\geq 401,000$)	1	2	36	22	13	13	87
N° MILK SAMPLES	79	56	173	121	43	151	623

a) MIXED GLM model:

$$Y_{ijklmn} = \mu + P_i + S_j + C_k + H_l + \alpha_m + \beta(MY)_{ijklmn} + e_{ijklmn}$$

Y_{ijklmn} = observed value of milk parameters

μ = overall mean

P_i = fixed effect of parity

S_j = fixed effect of season of calving

C_k = fixed effect of the days in milk

H_l = fixed effect of the SCC

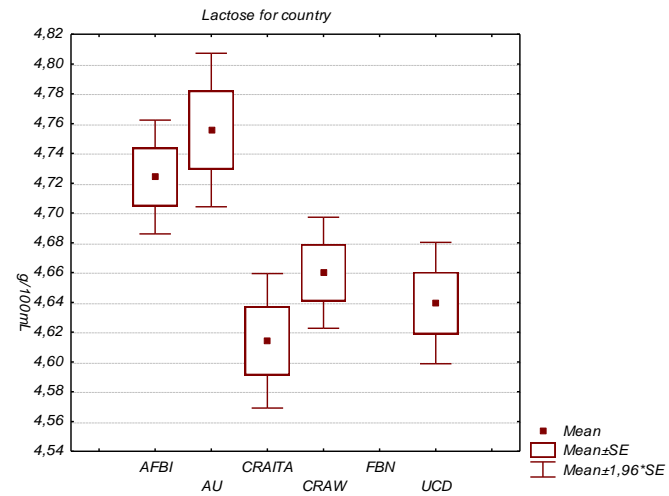
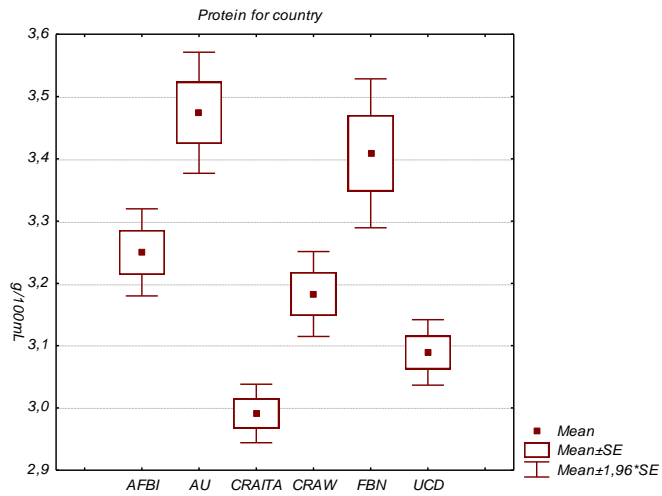
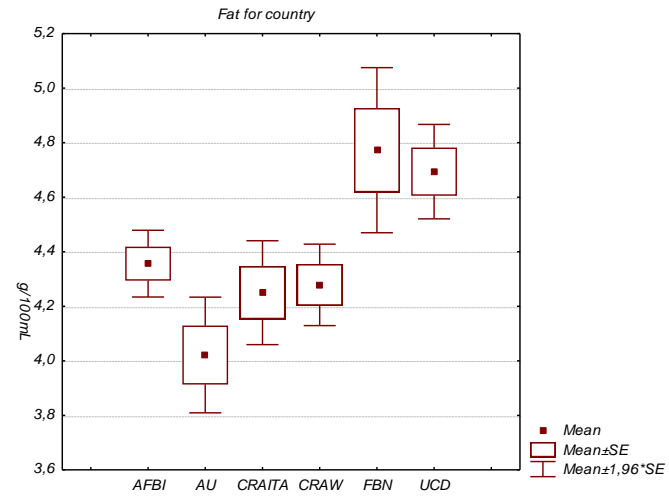
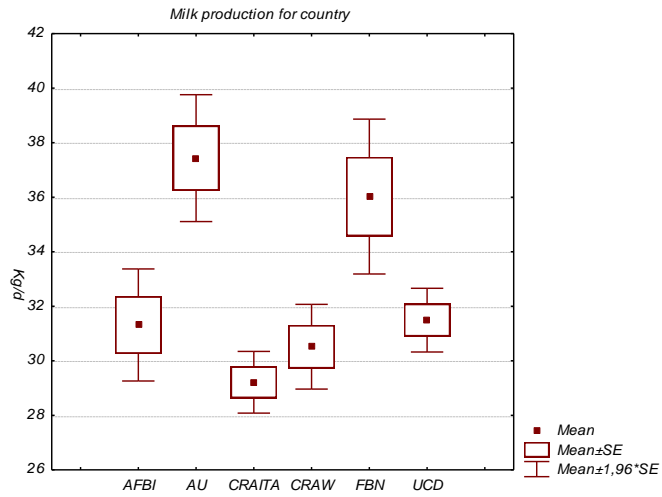
α = random effect

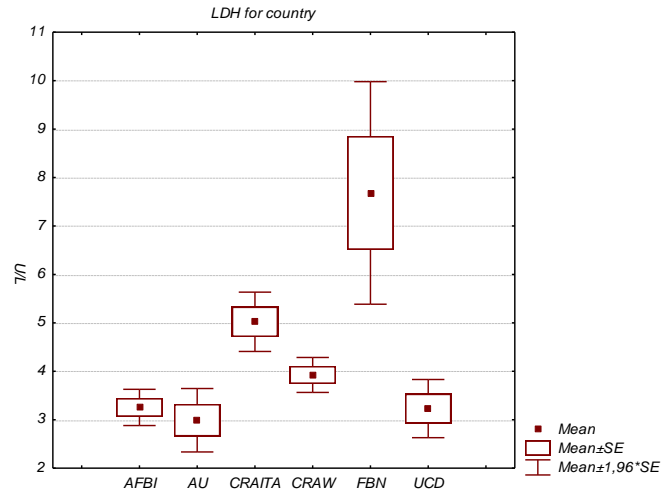
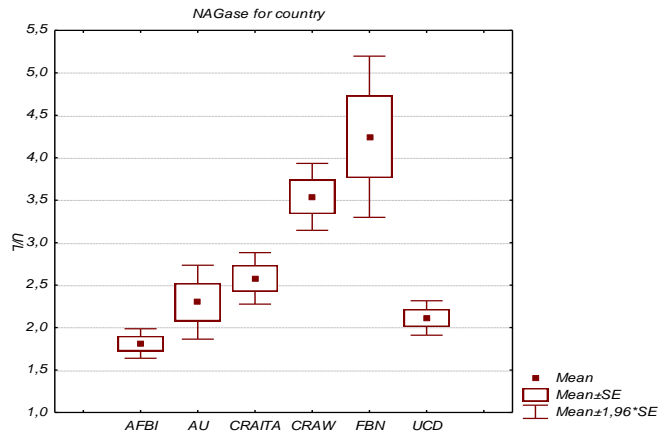
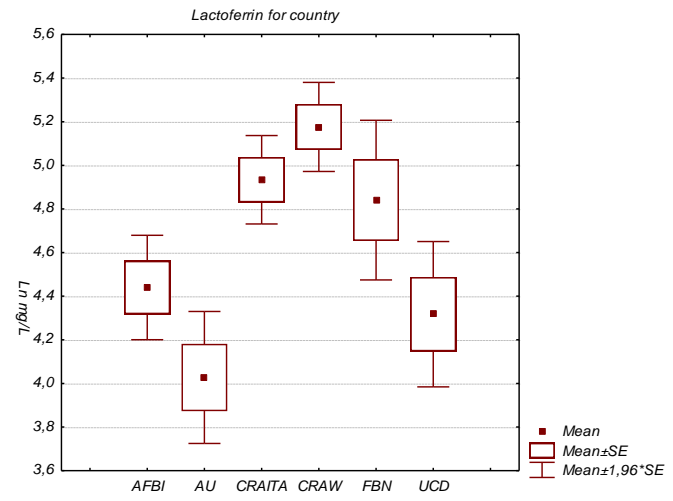
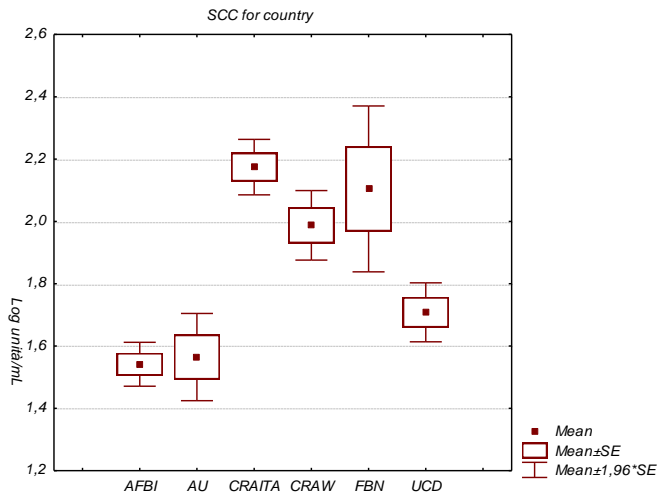
$\beta(MY)_{ijklmn}$ = regression effect of milk yield with the regression coefficient

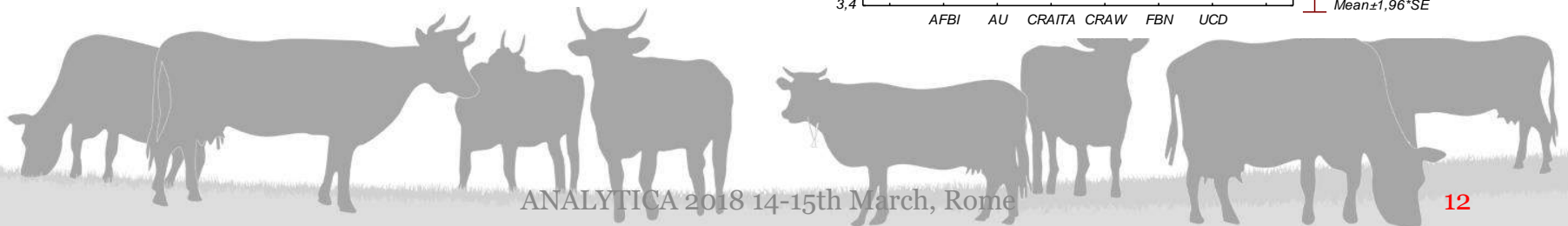
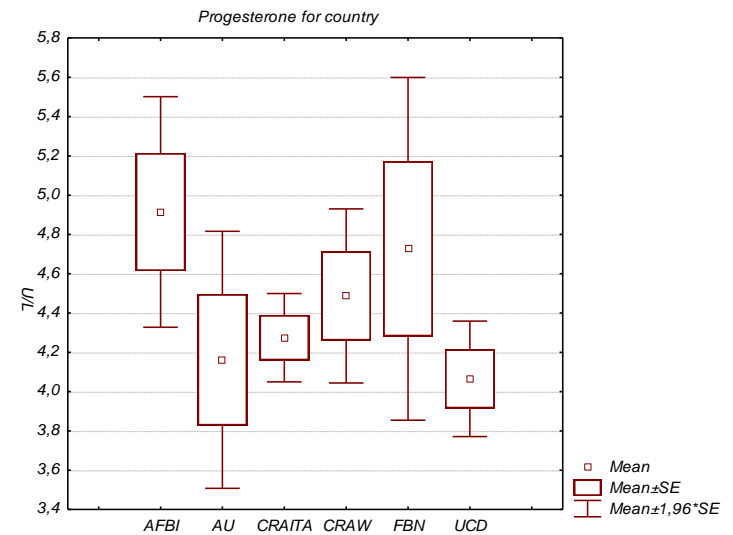
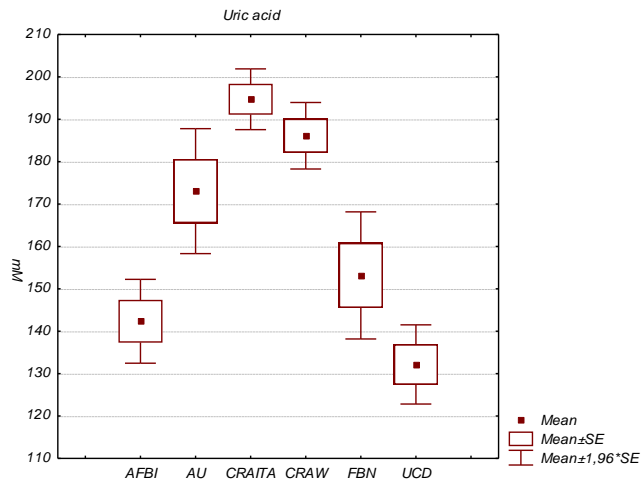
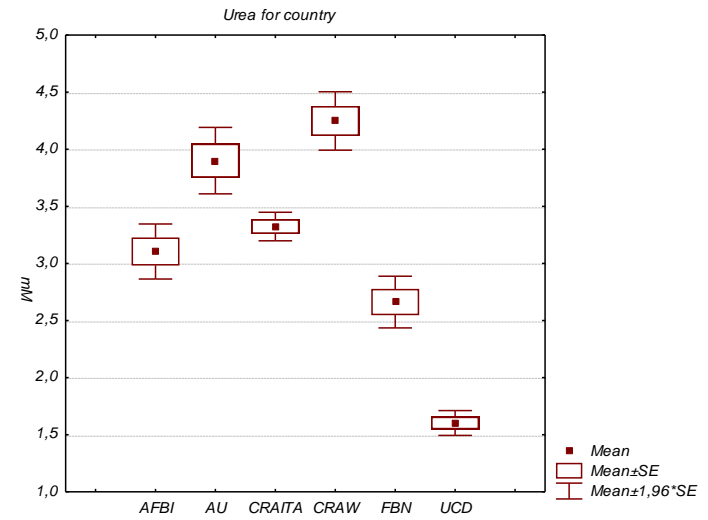
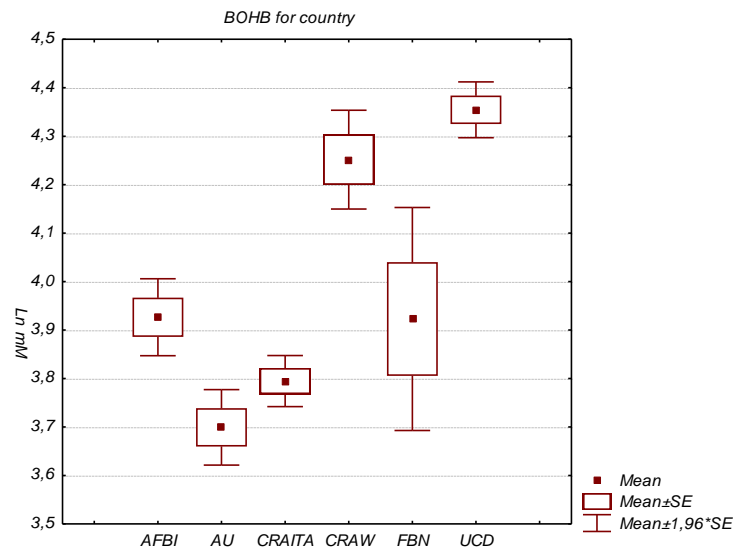
e_{ijklmn} = random error

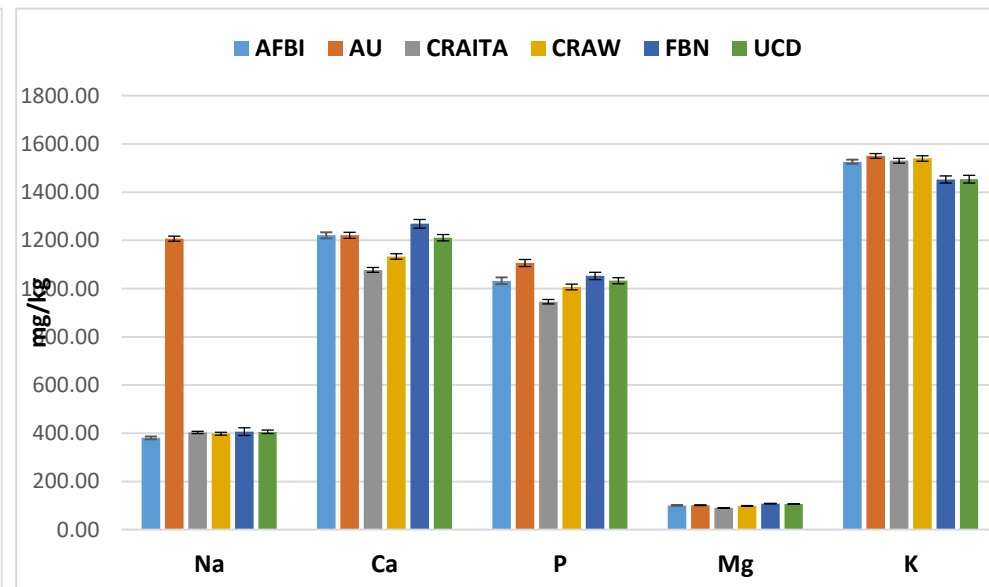
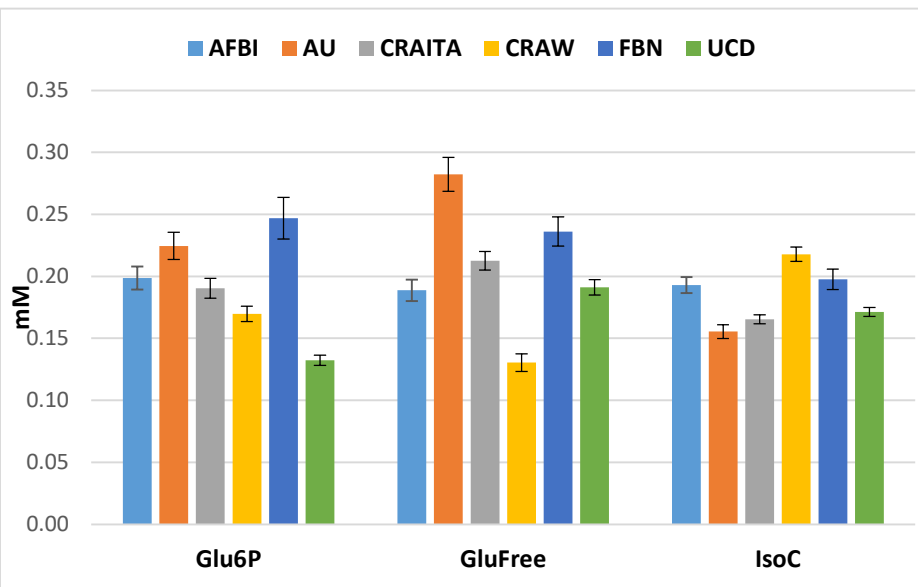
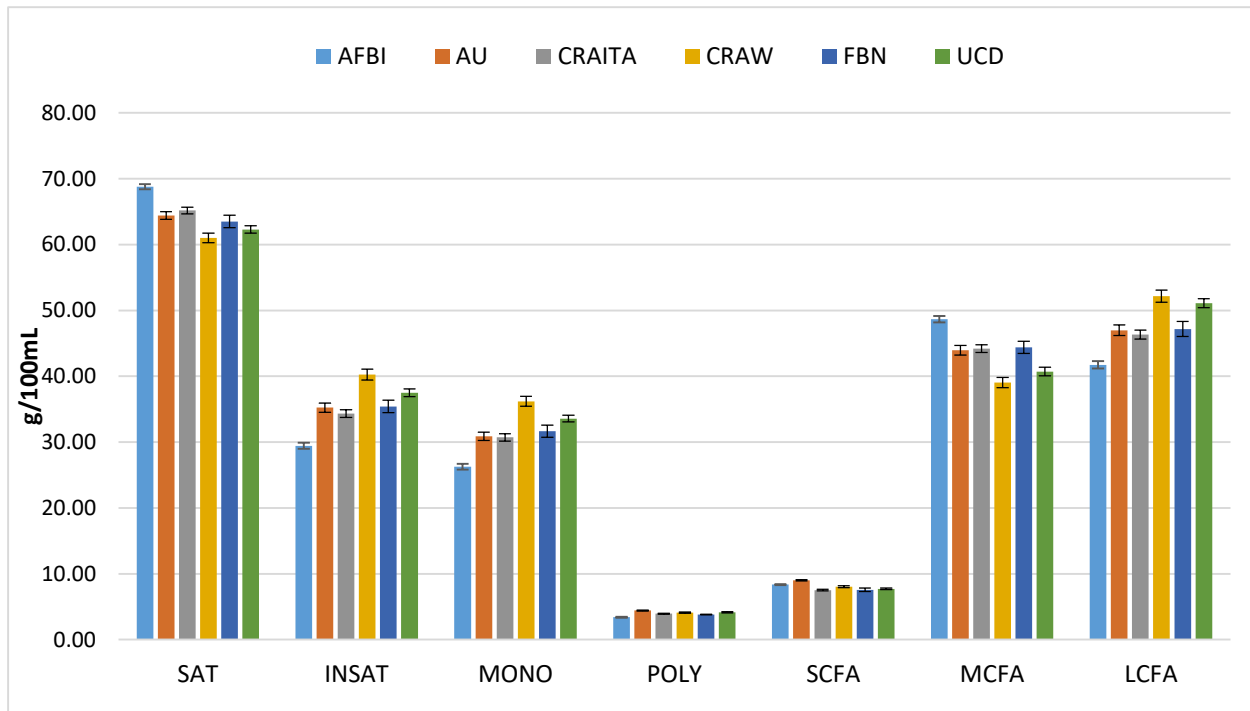
b) PROC CORR

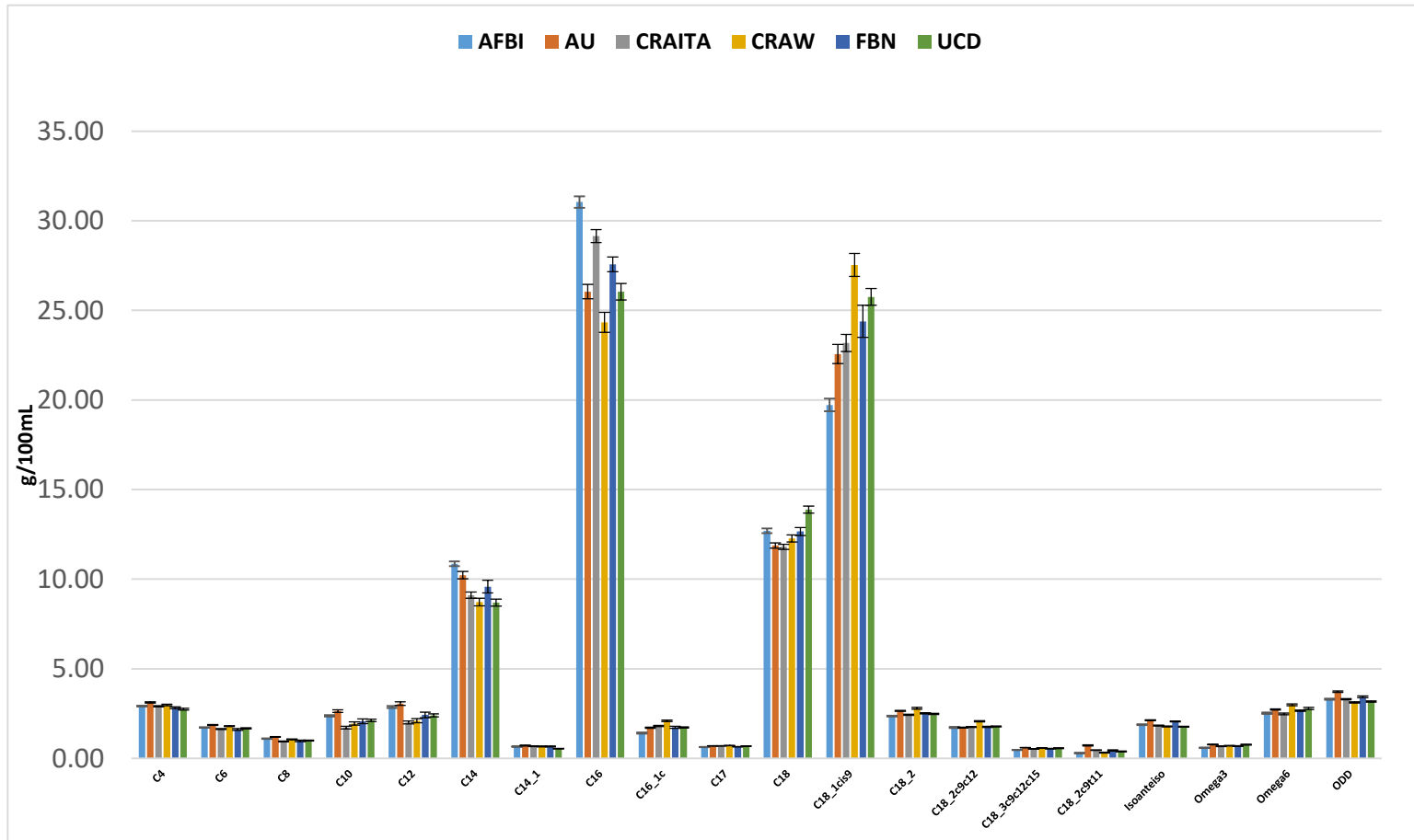
c) CANDISC

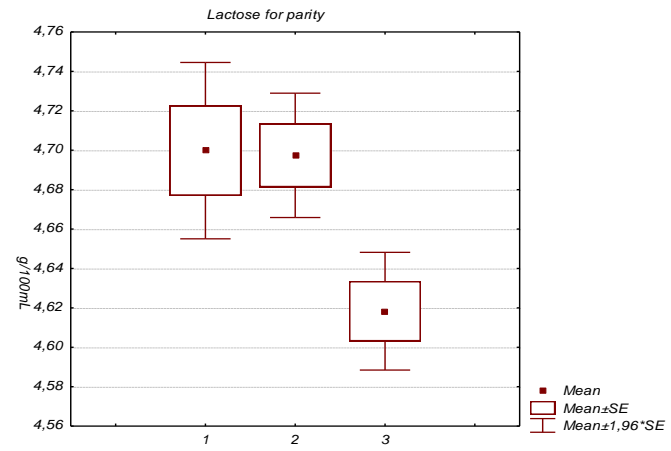
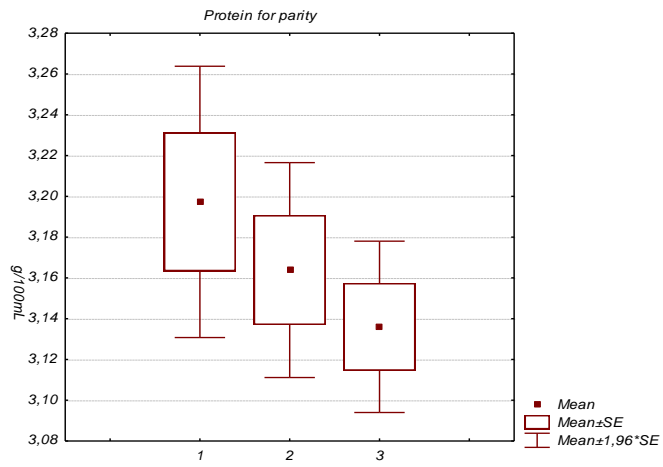
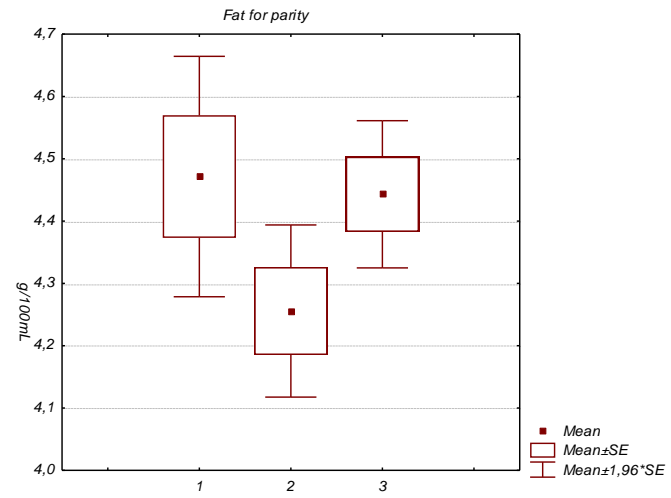
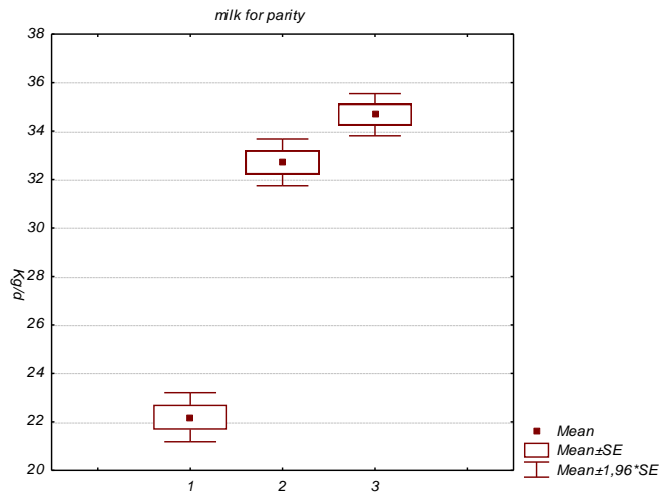


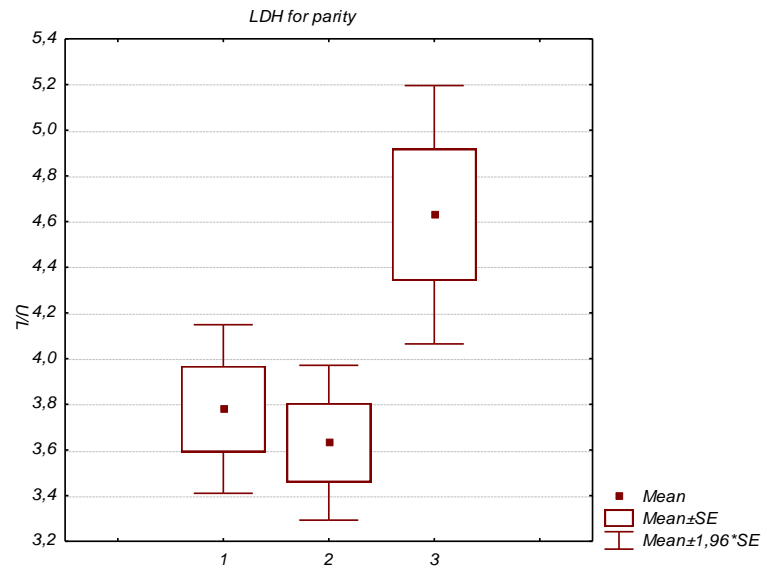
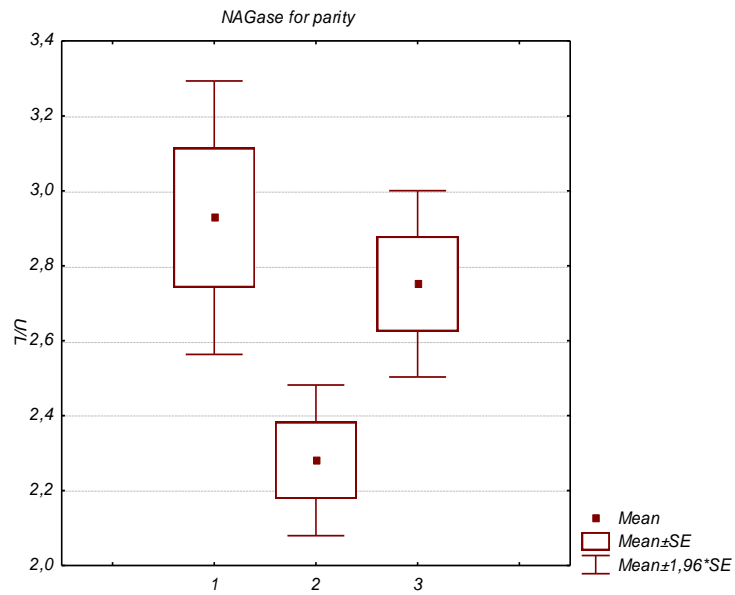
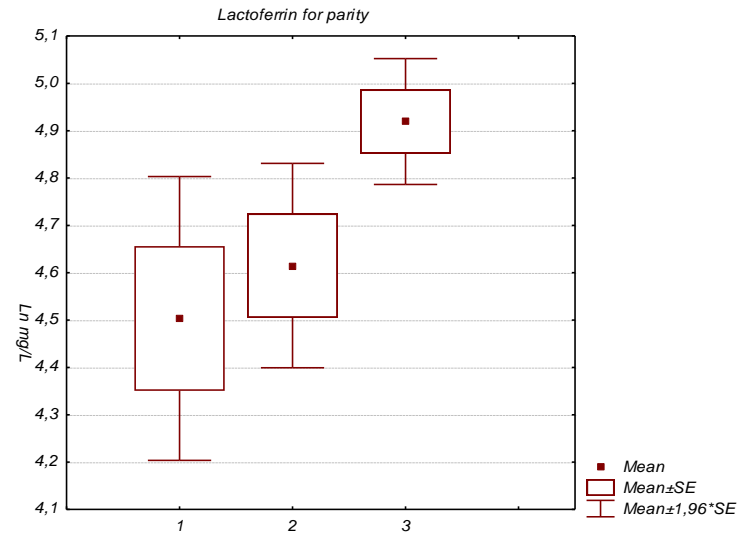
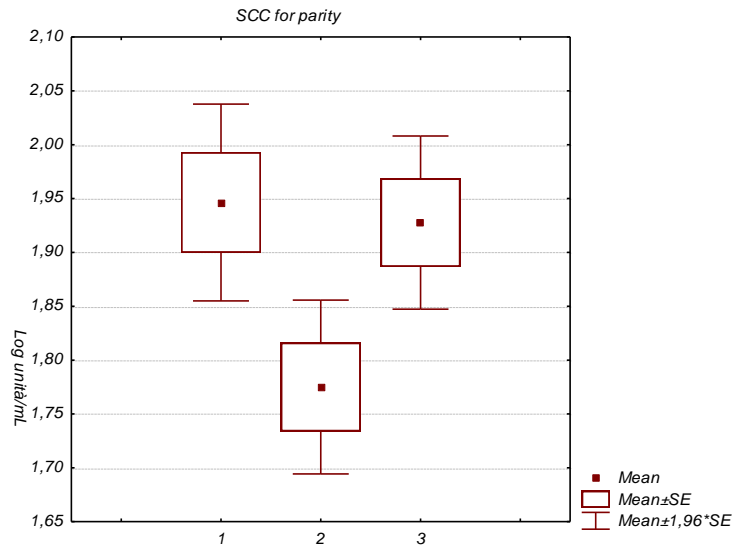


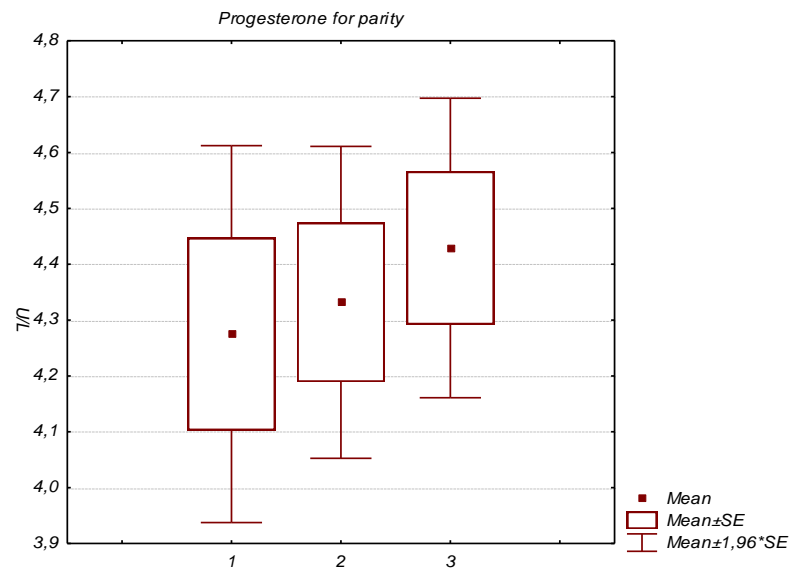
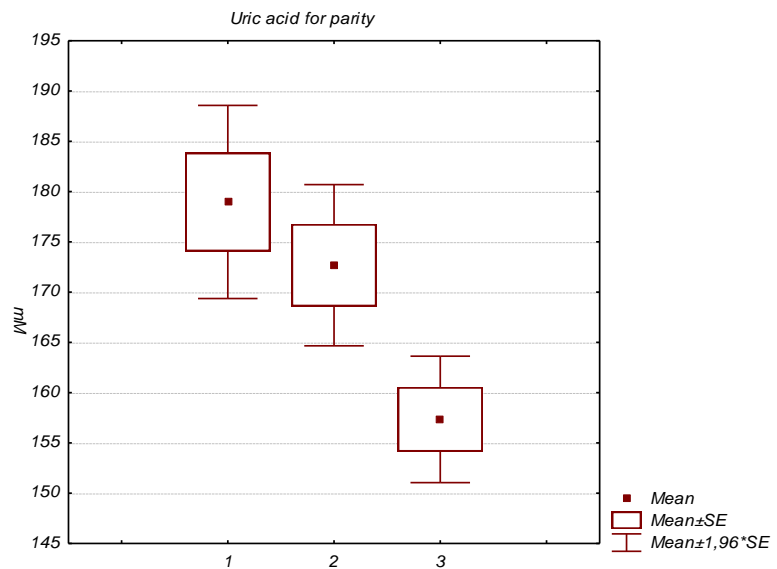
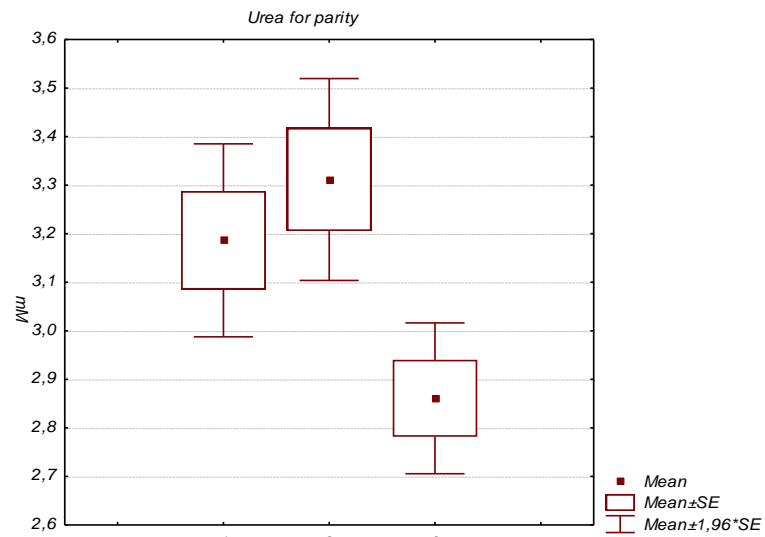
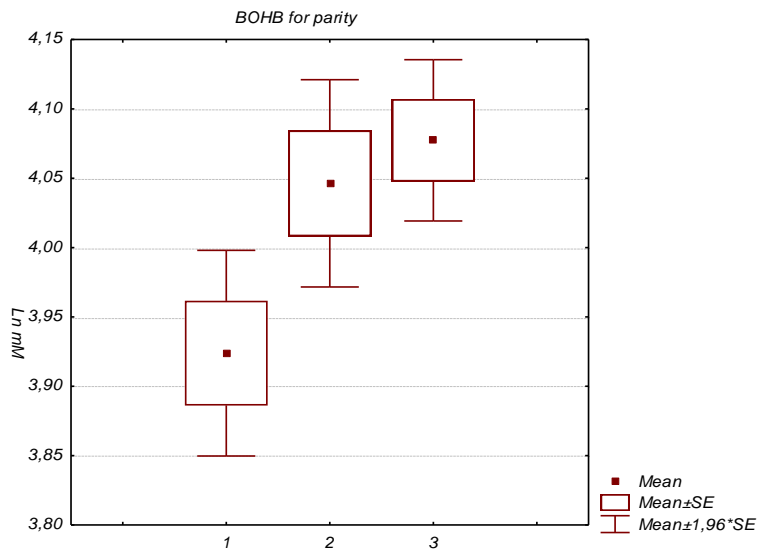


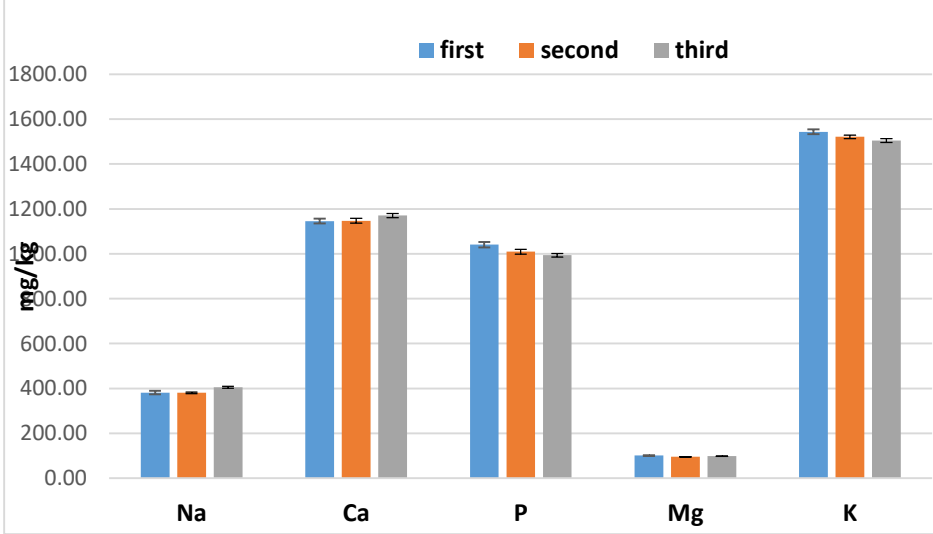
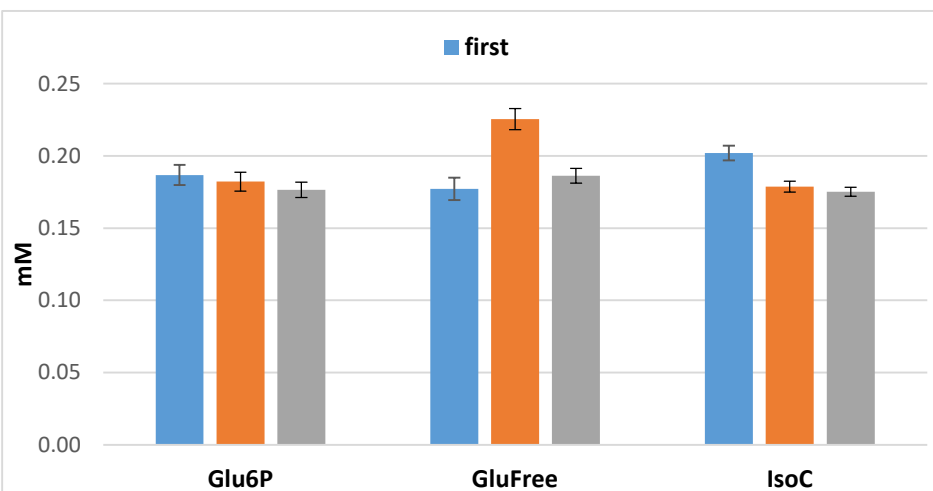
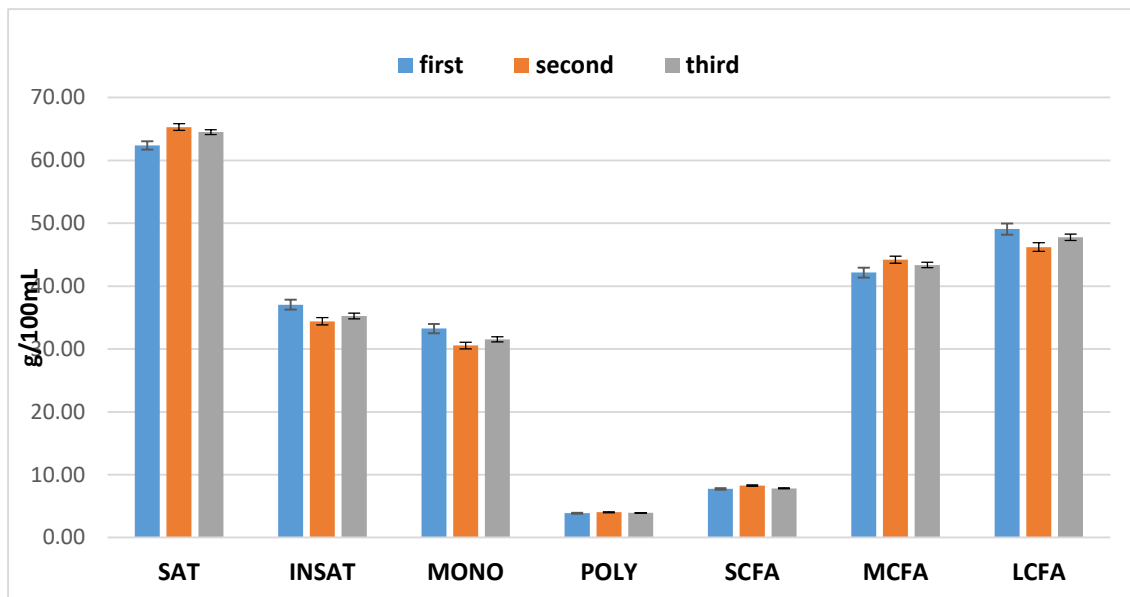


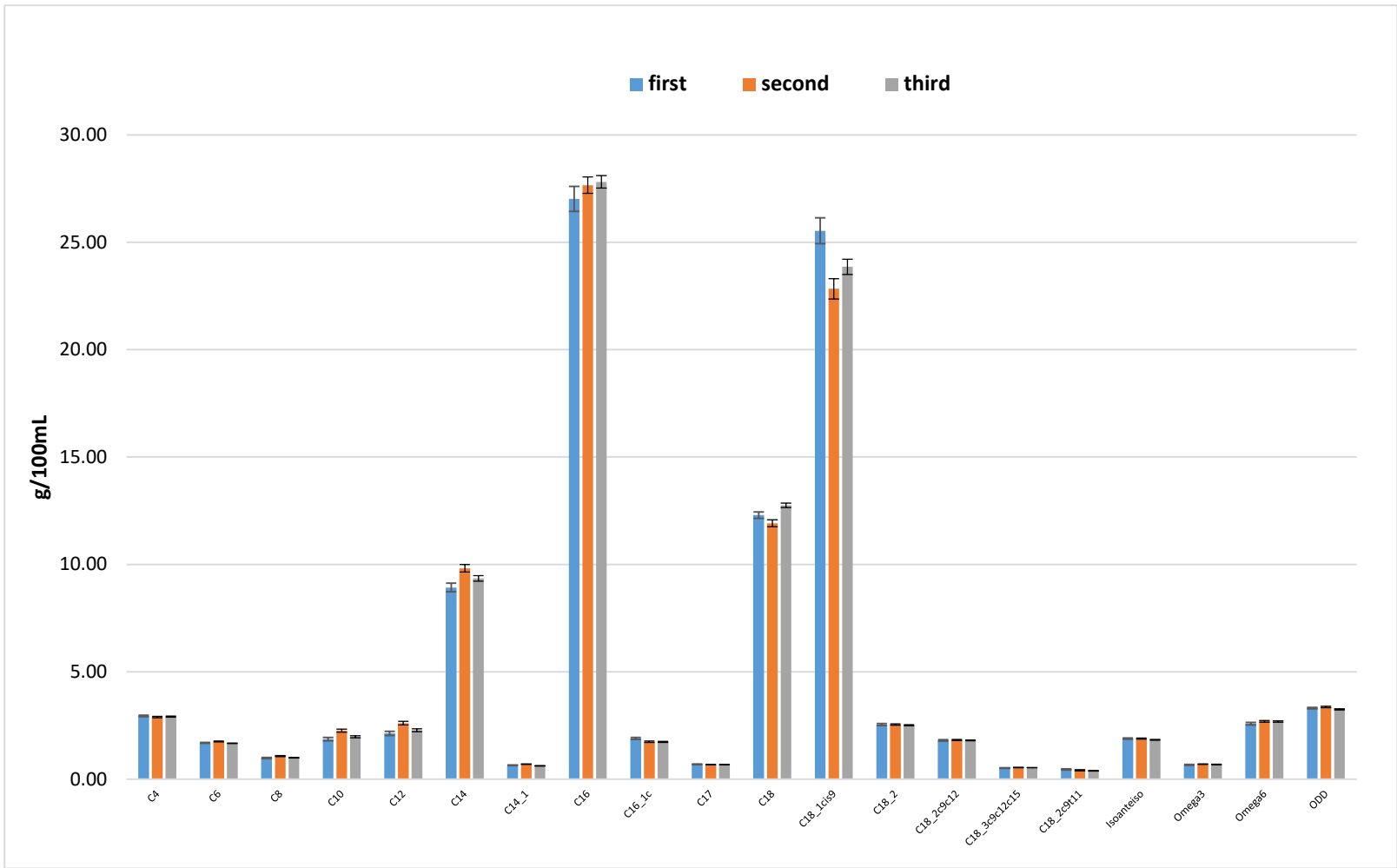




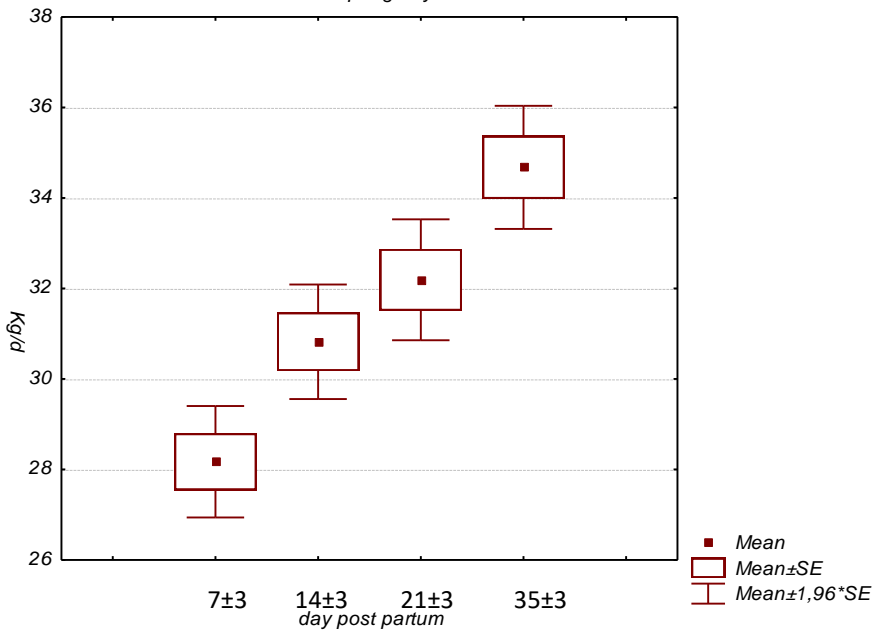




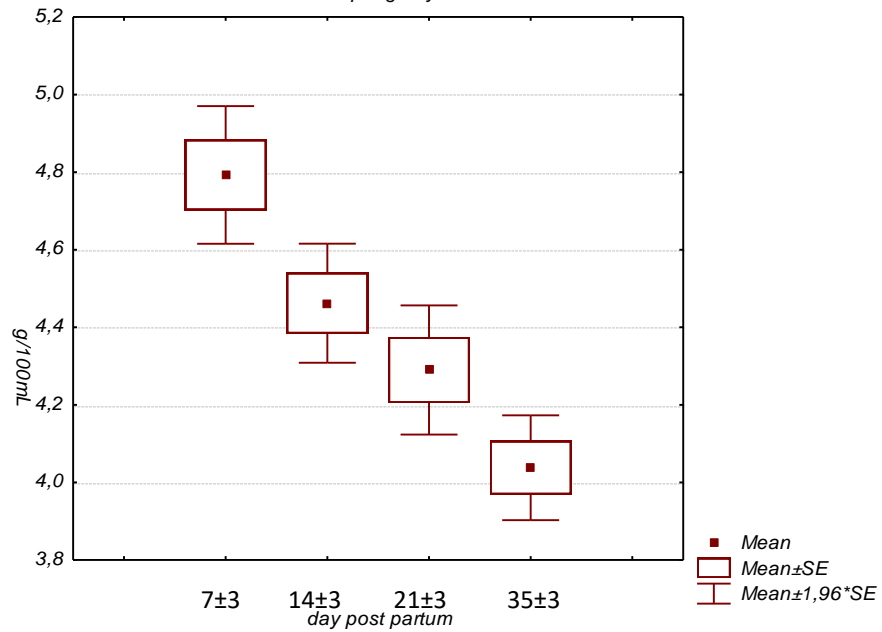




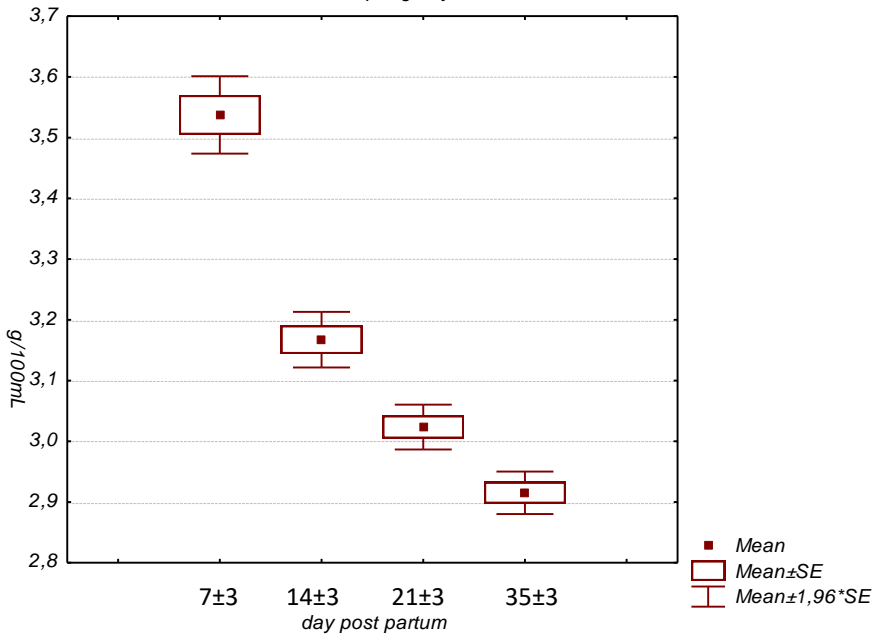
milk for sampling day



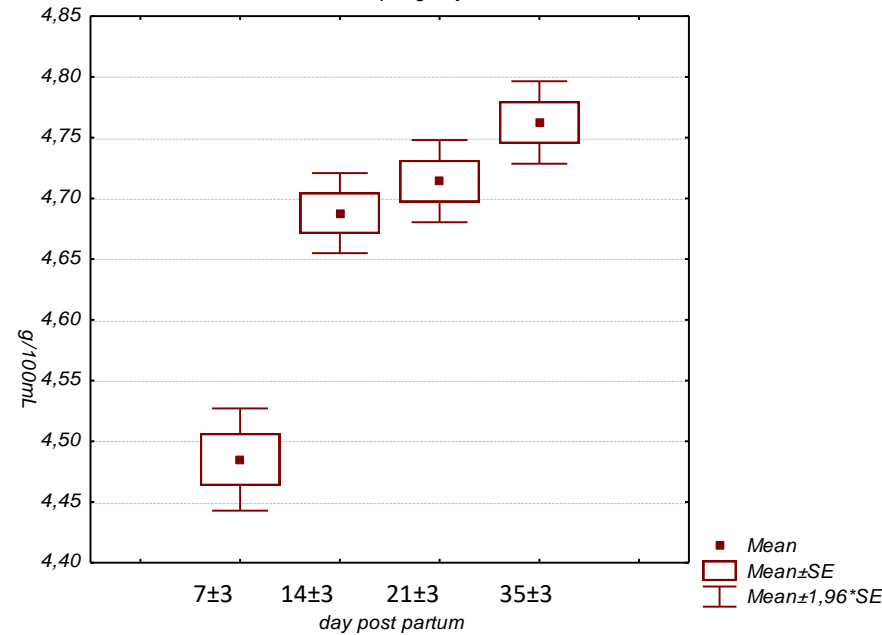
Fat for sampling day



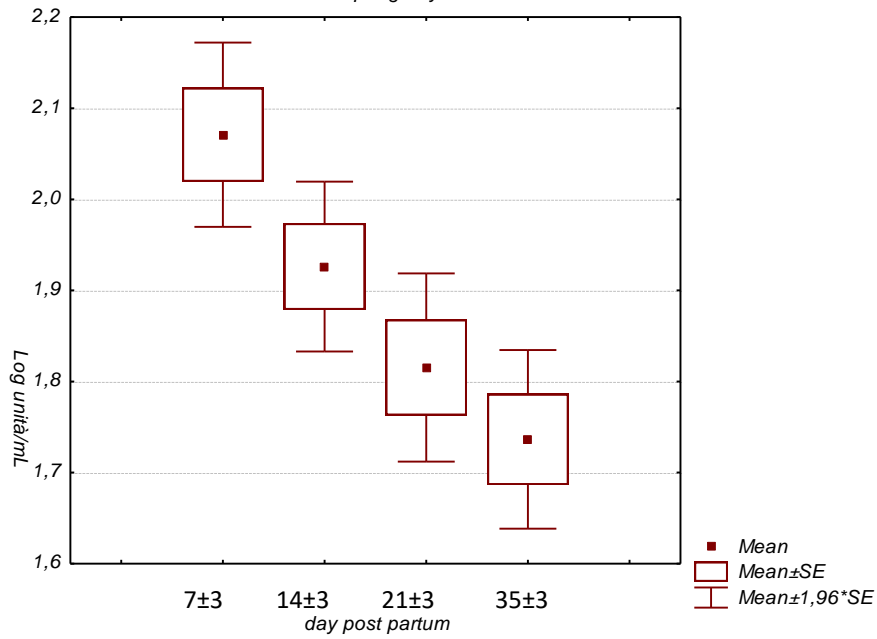
Protein for sampling day



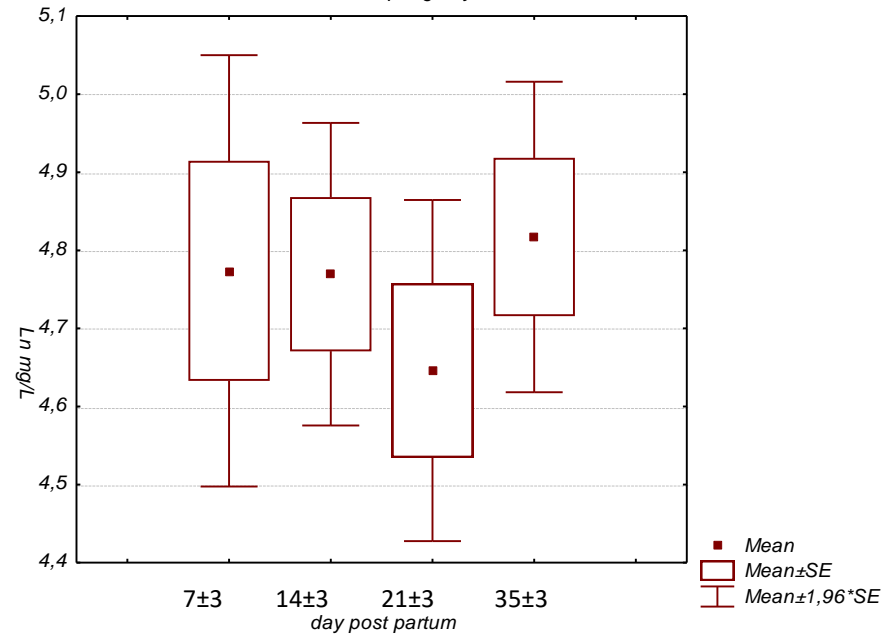
Lactose for sampling day



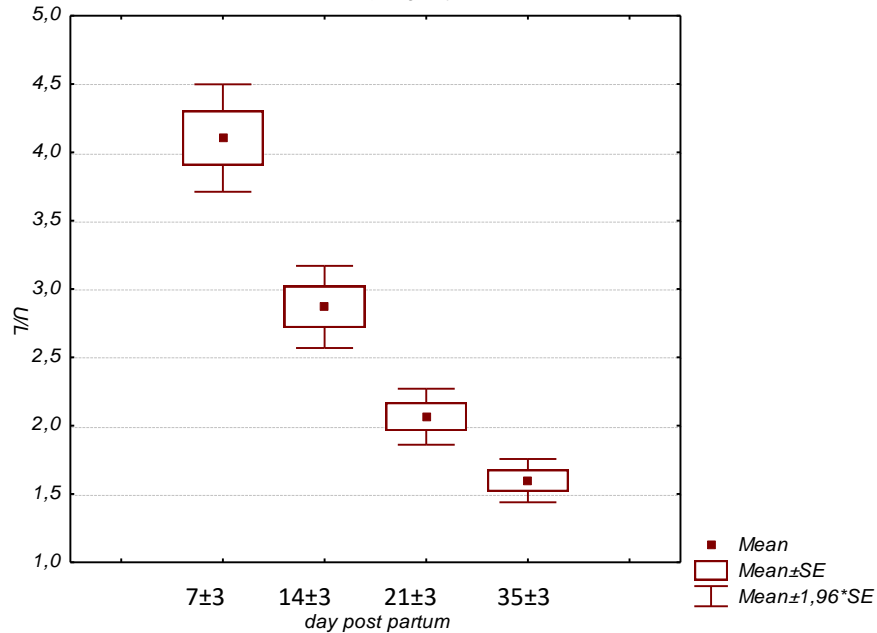
SCC for sampling day



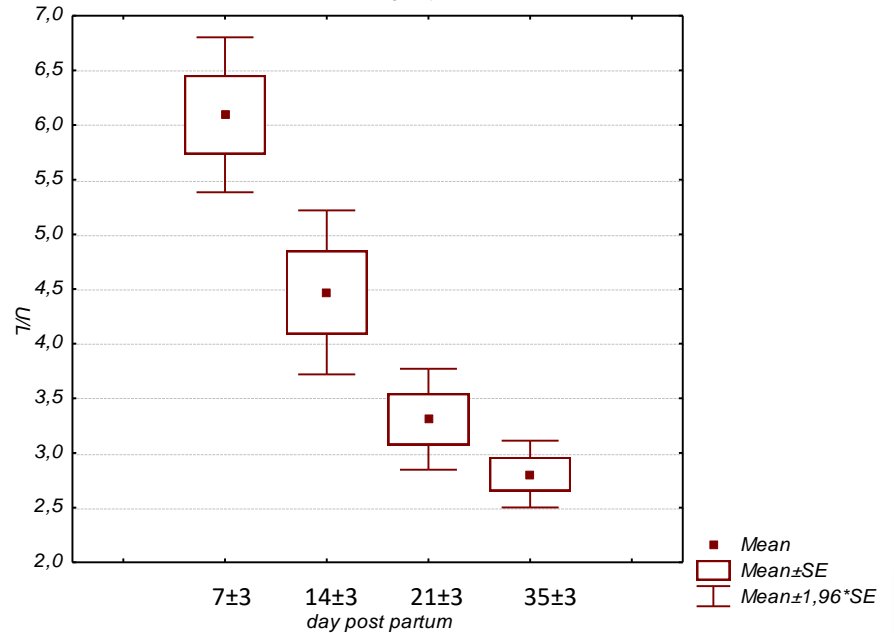
Lactoferrin for sampling day



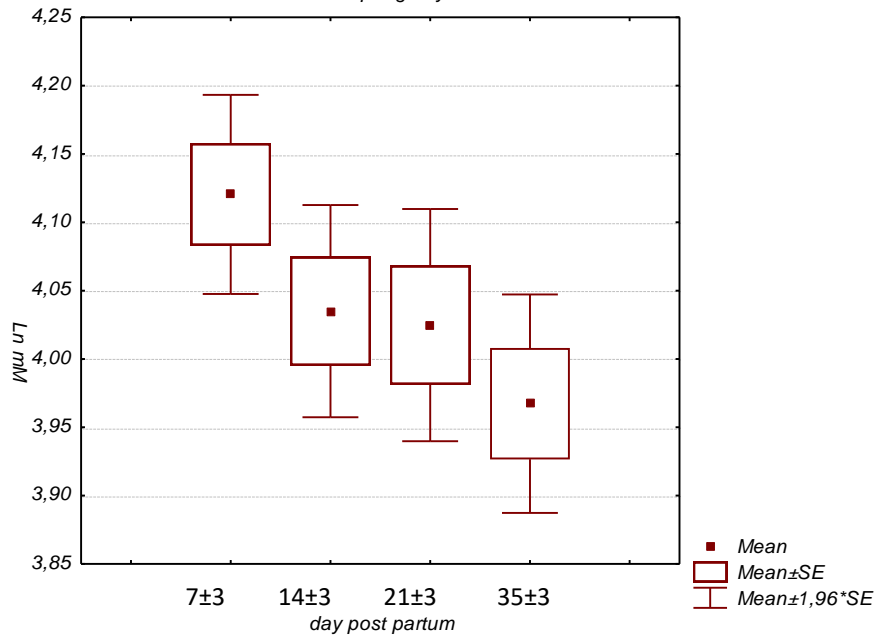
NAGase for sampling day



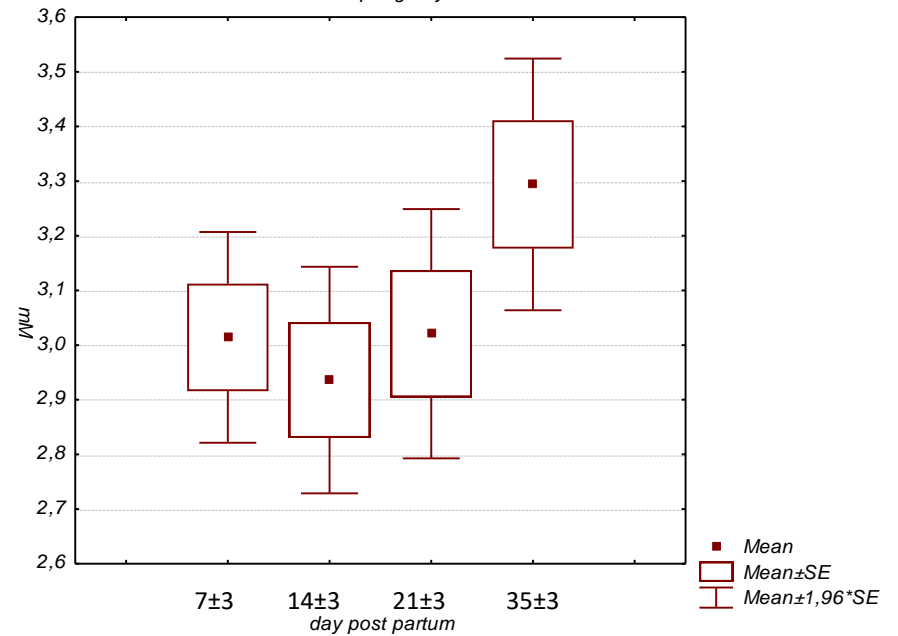
LDH for sampling day



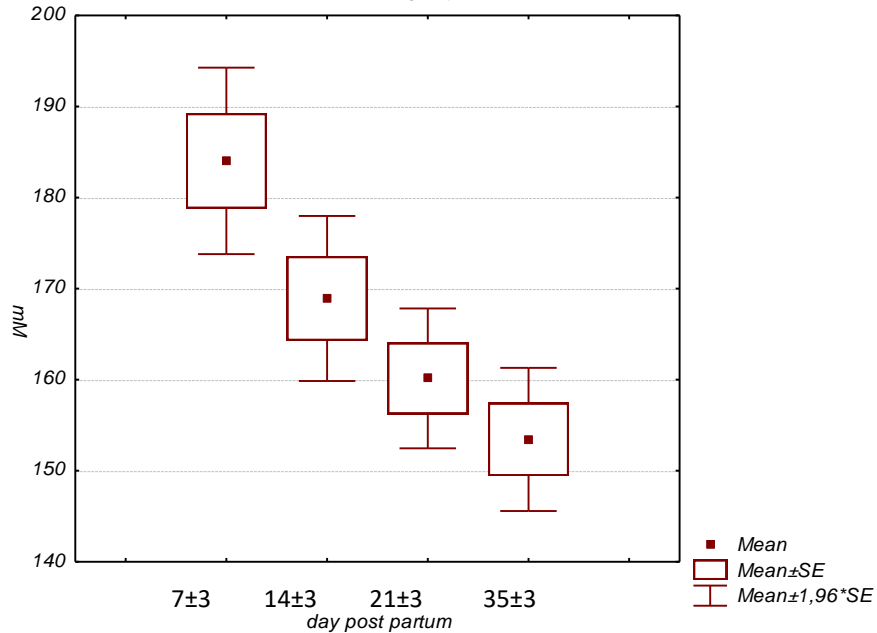
BOHB for sampling day



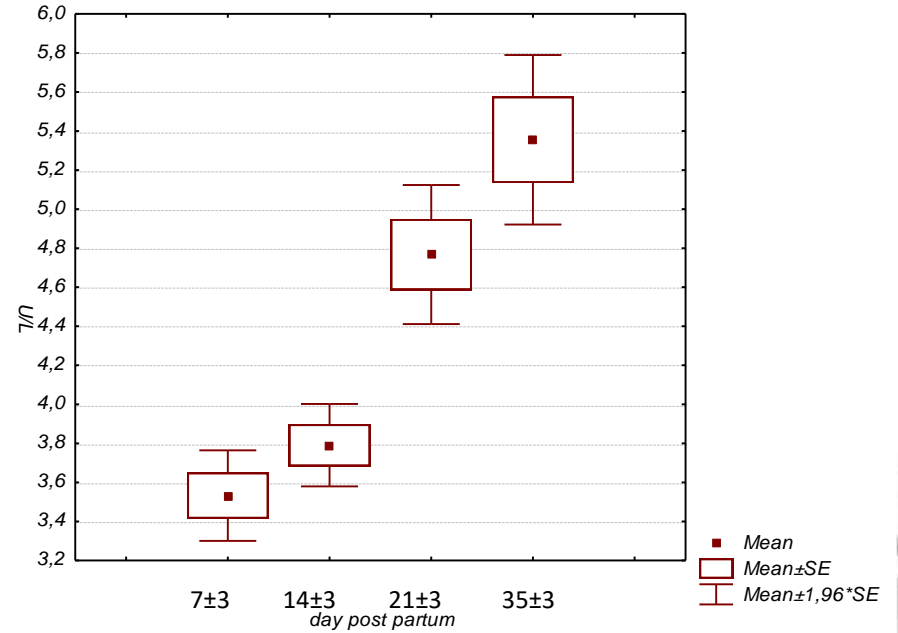
Urea for sampling day

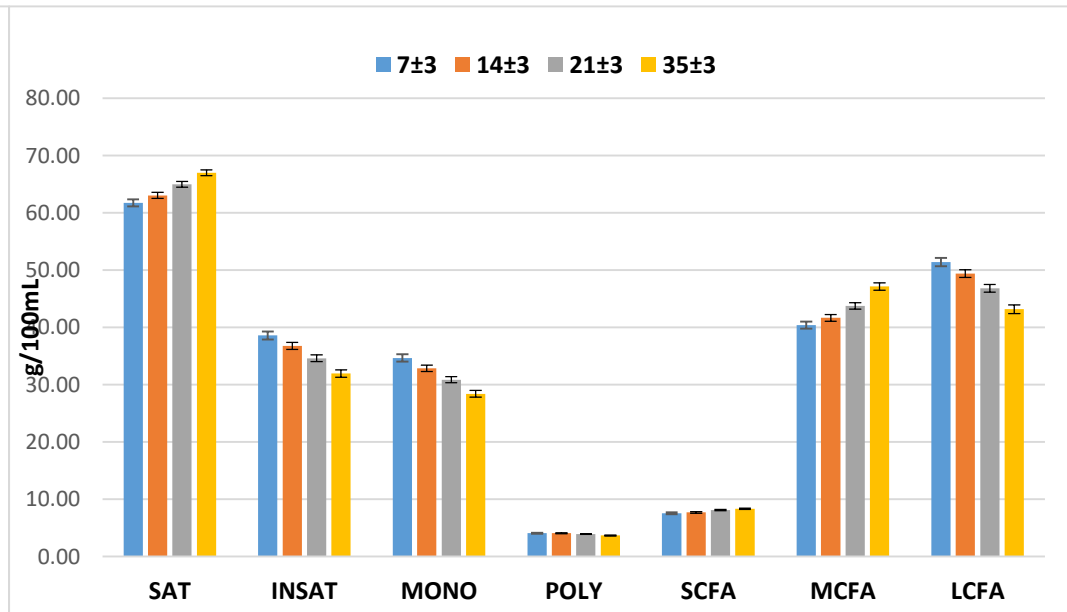
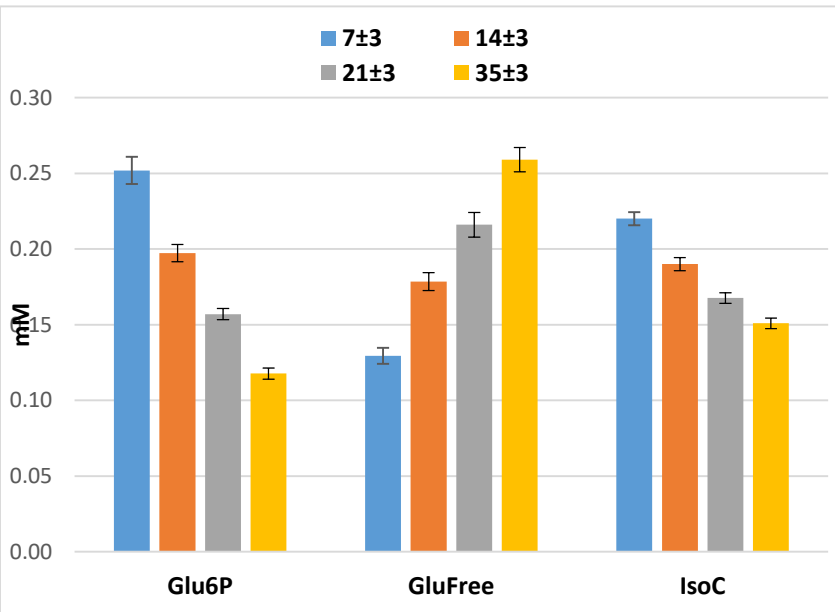
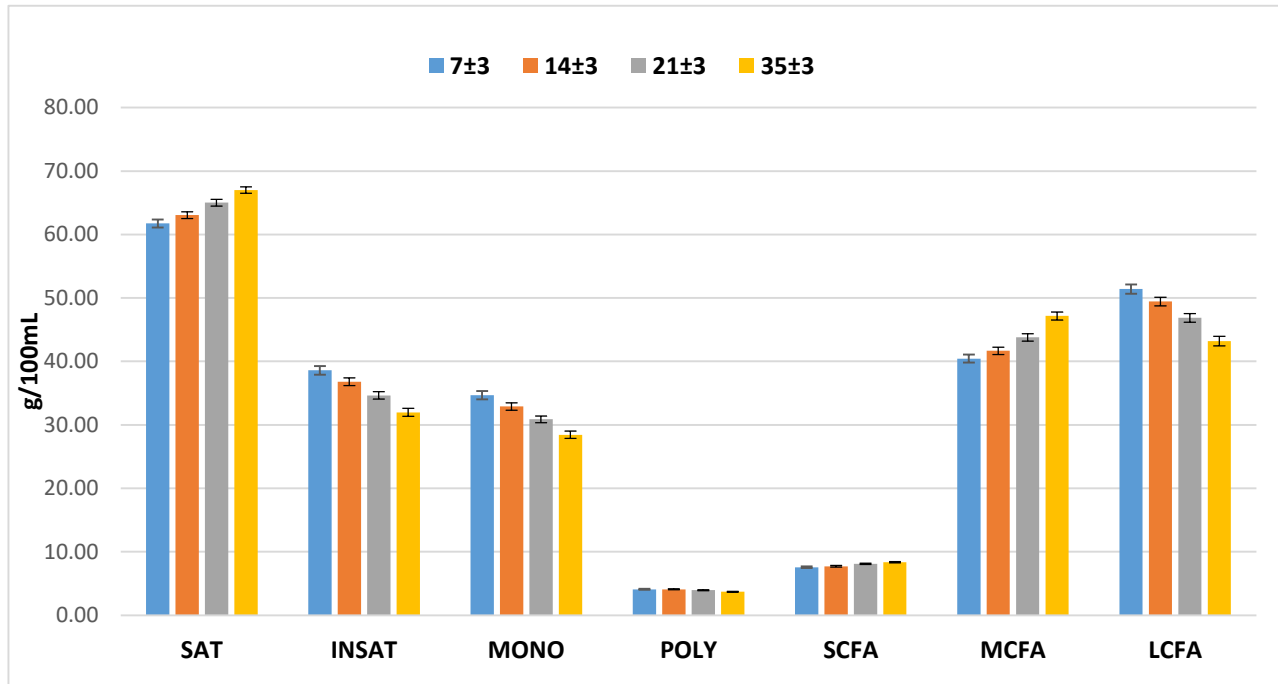


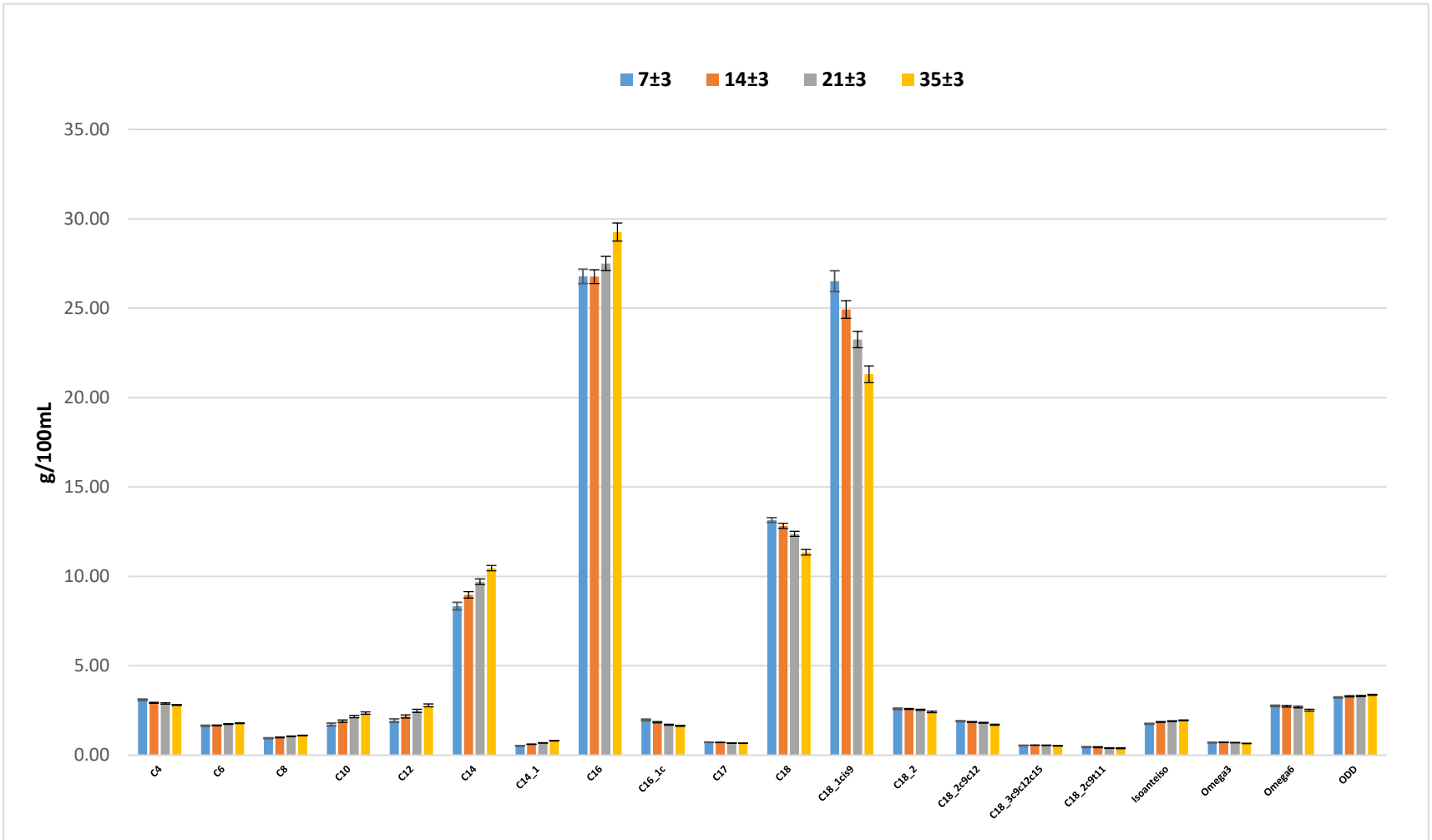
Uric acid for sampling day



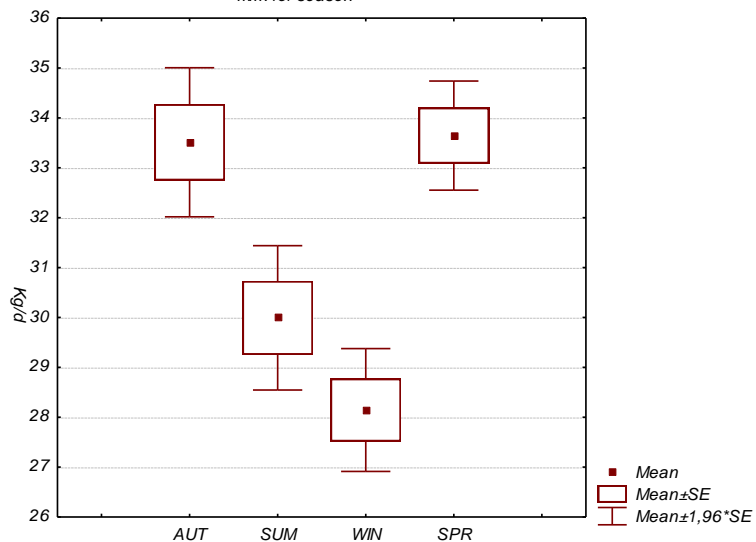
Progesterone for day



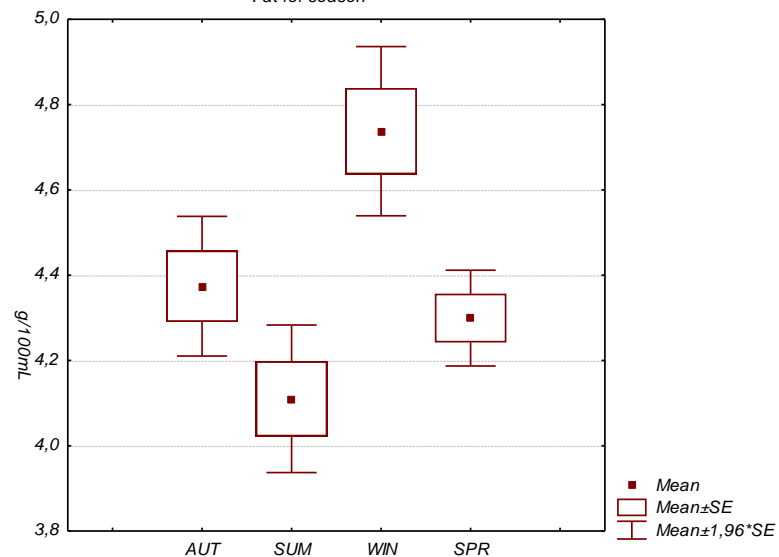




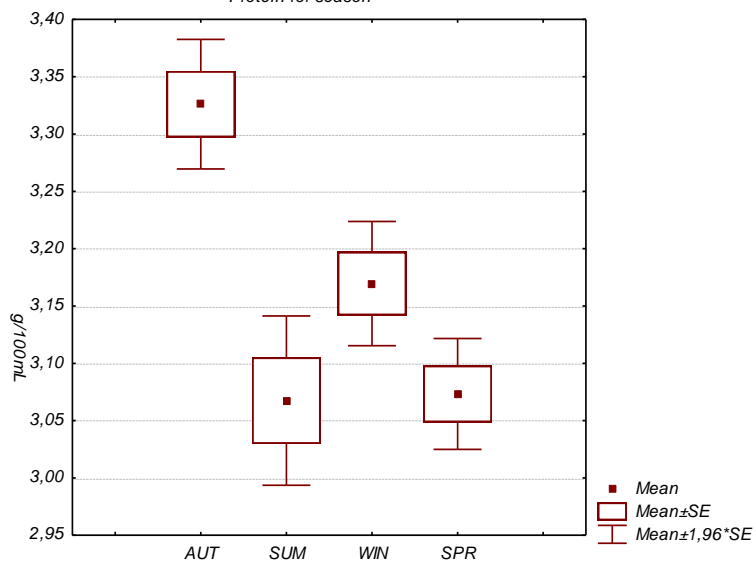
milk for season



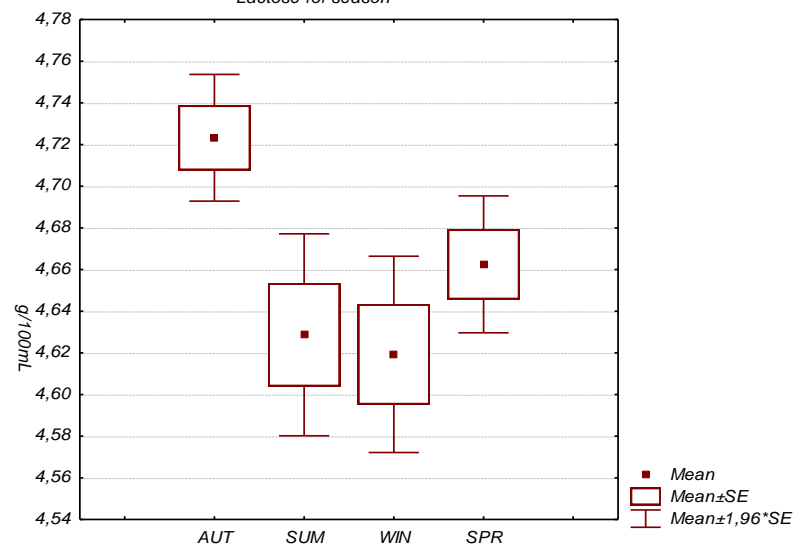
Fat for season

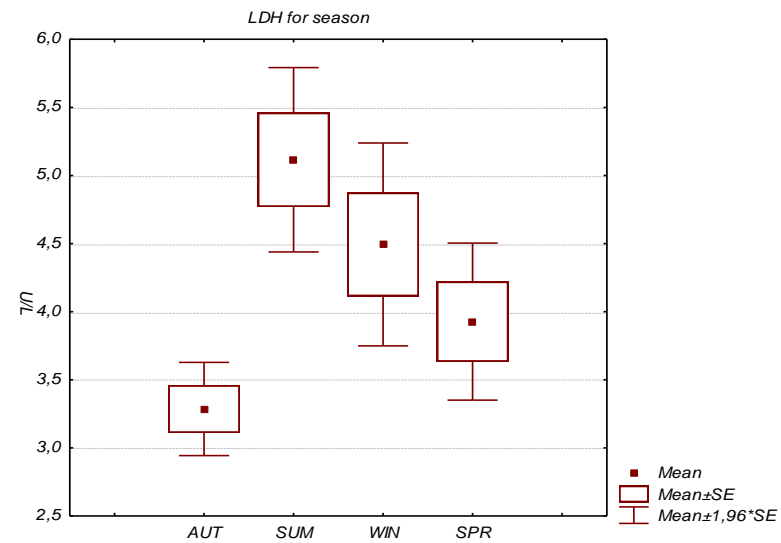
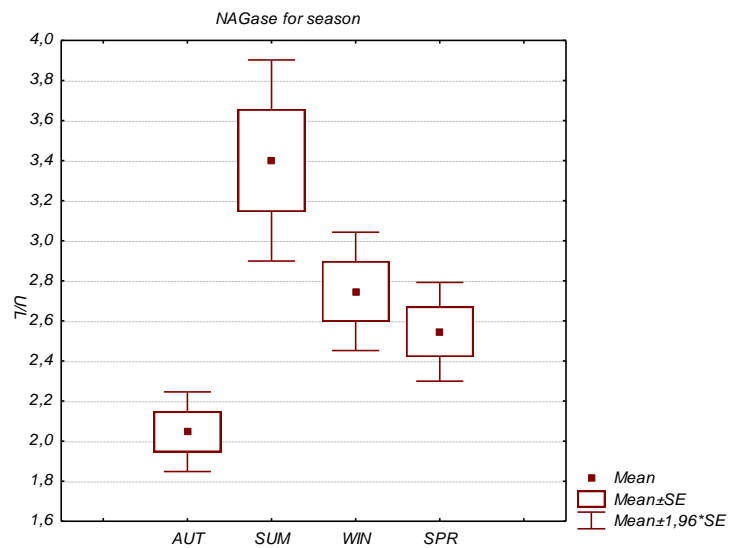
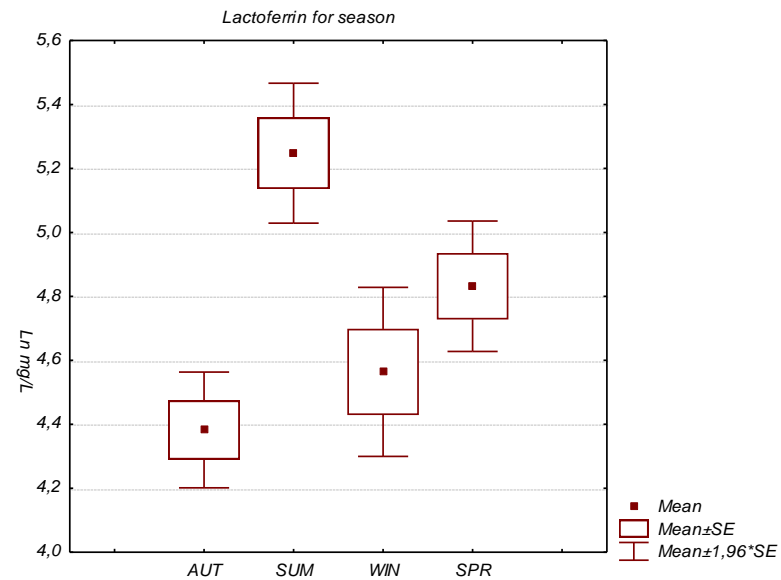
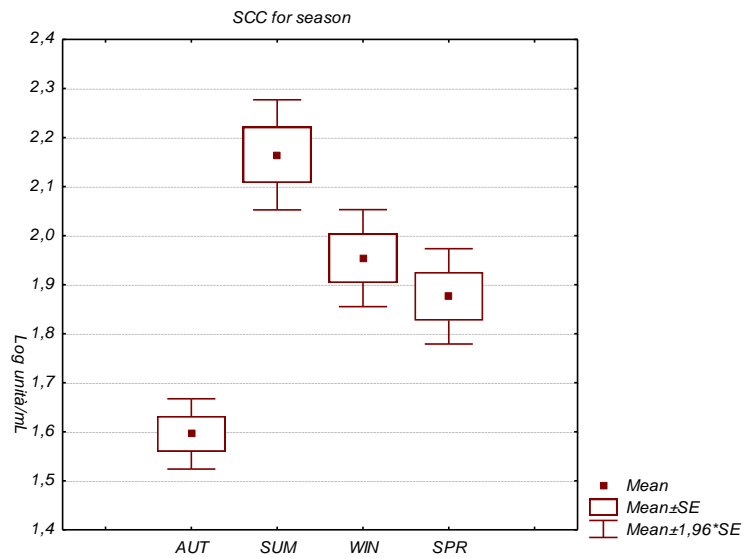


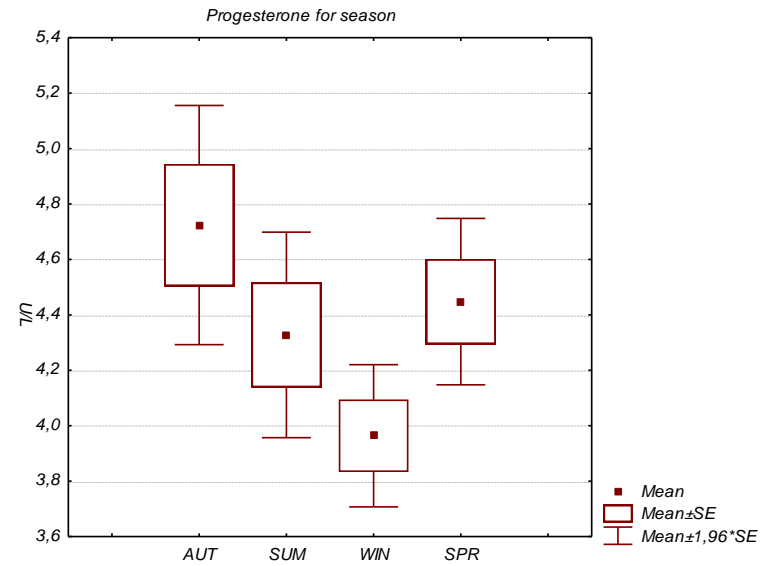
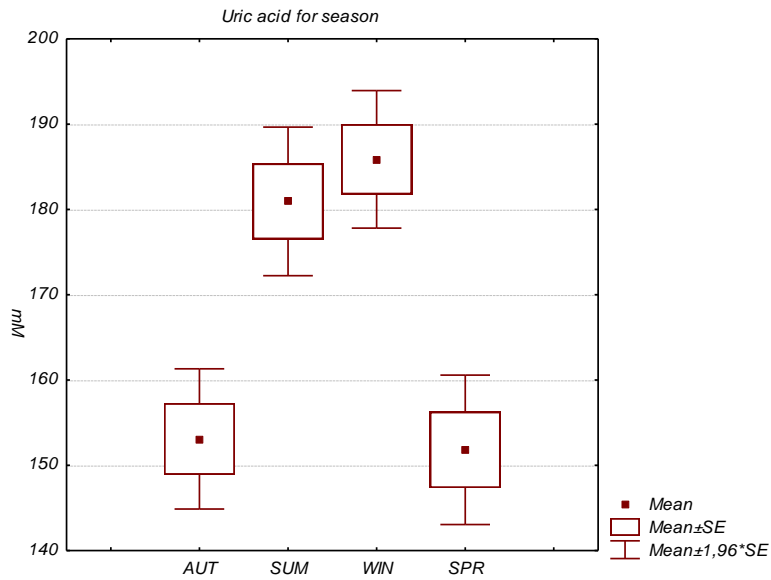
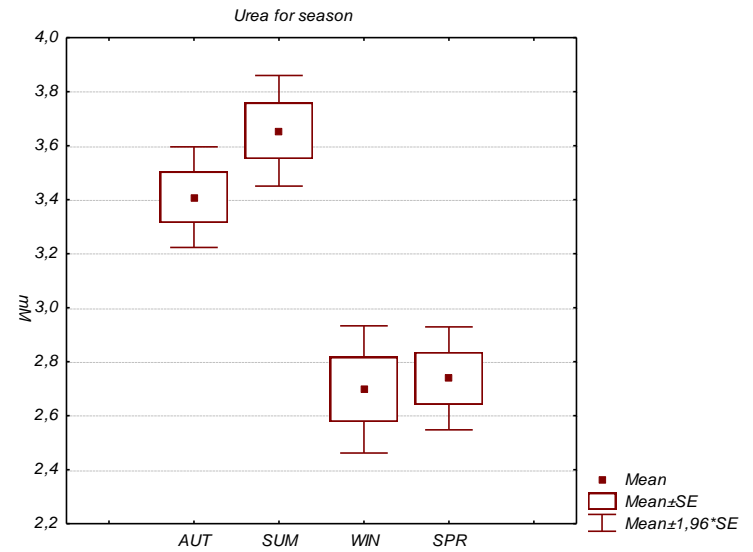
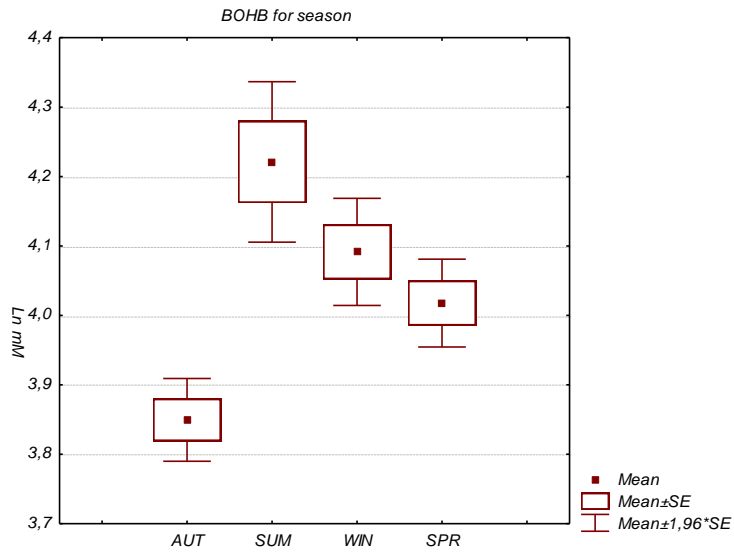
Protein for season

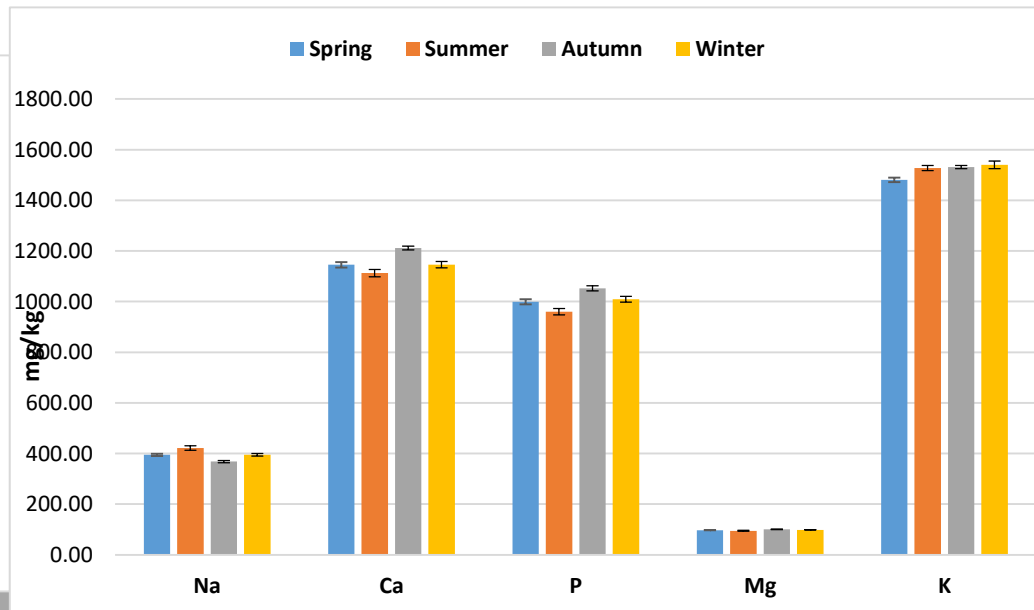
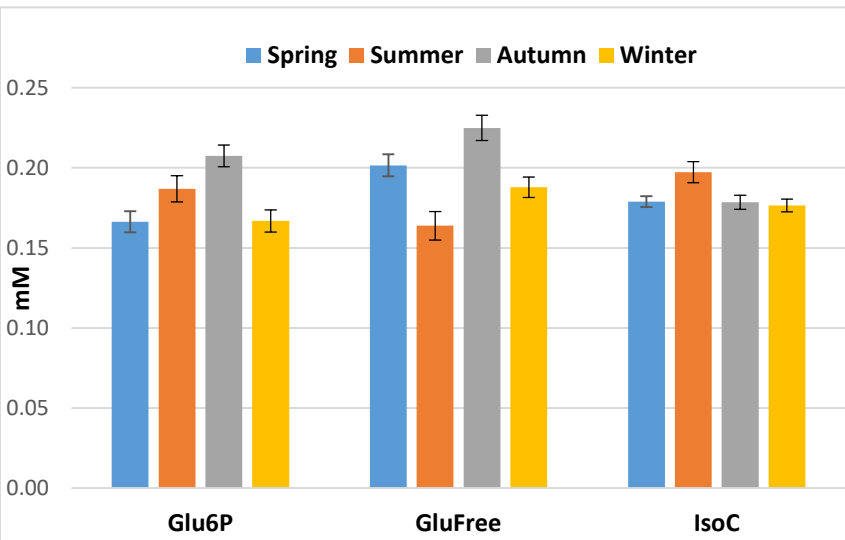
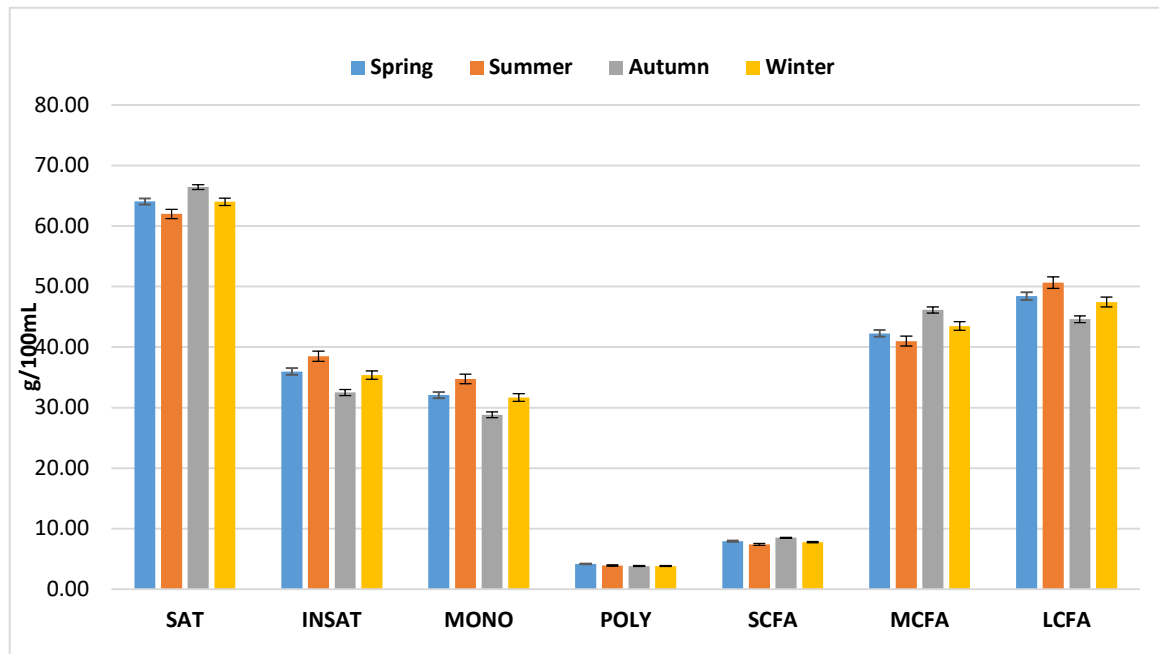


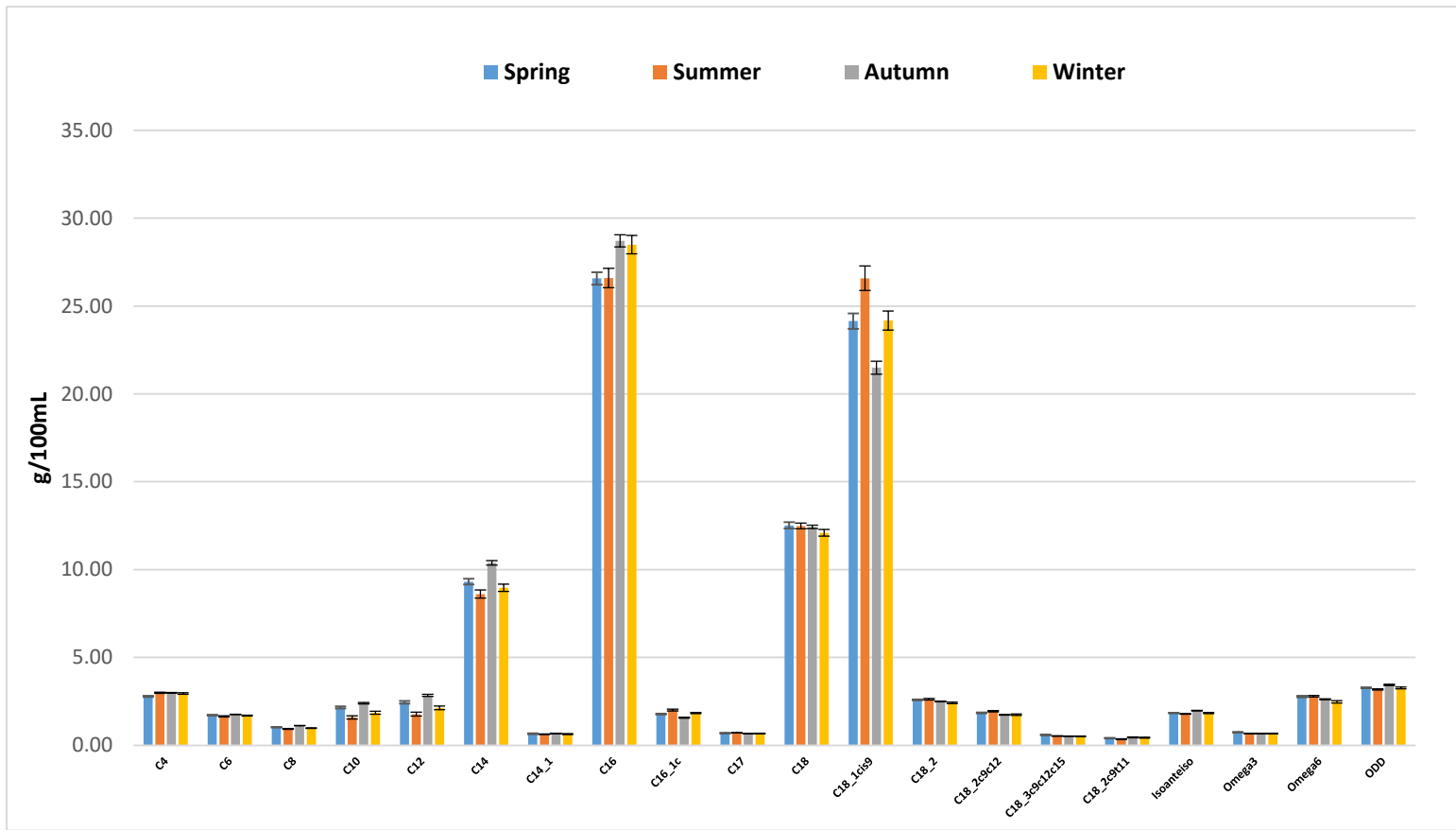
Lactose for season

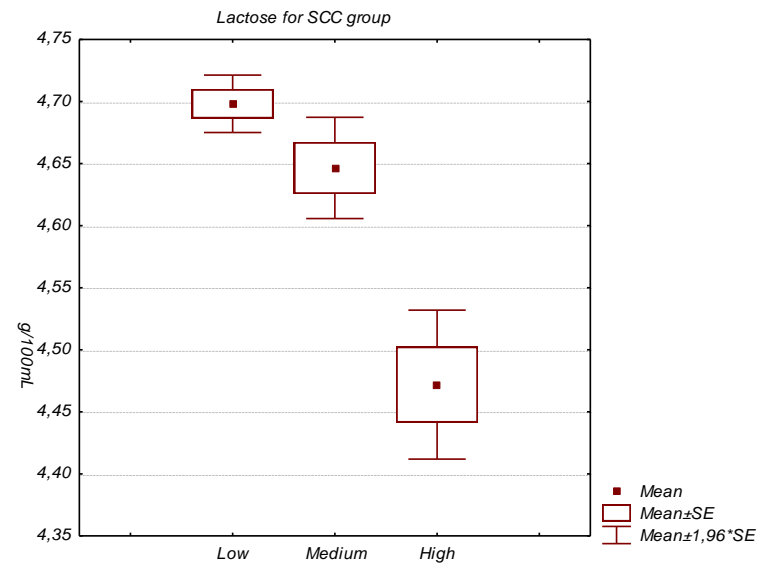
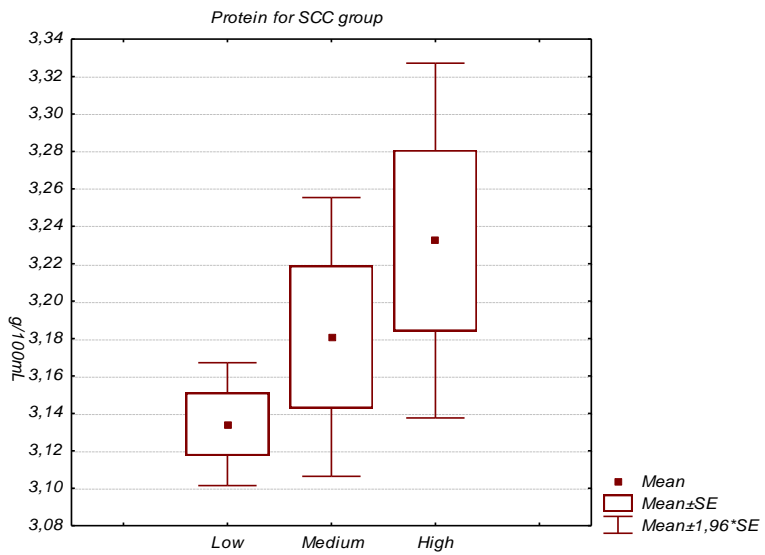
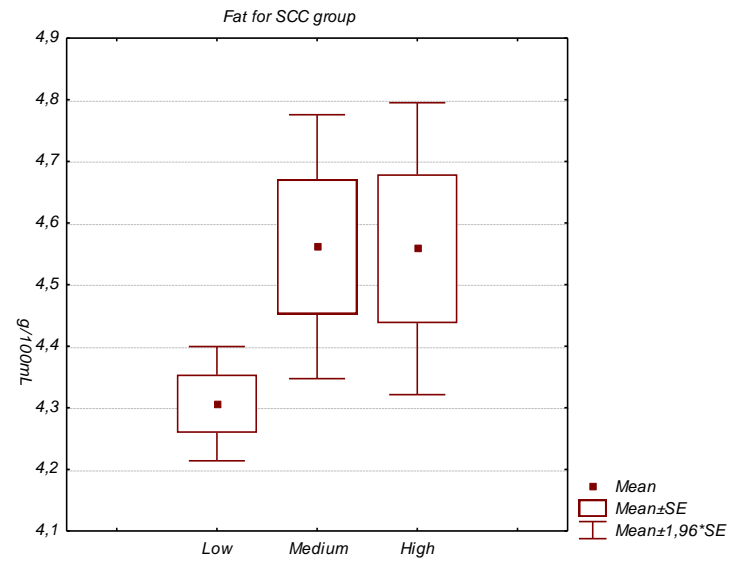
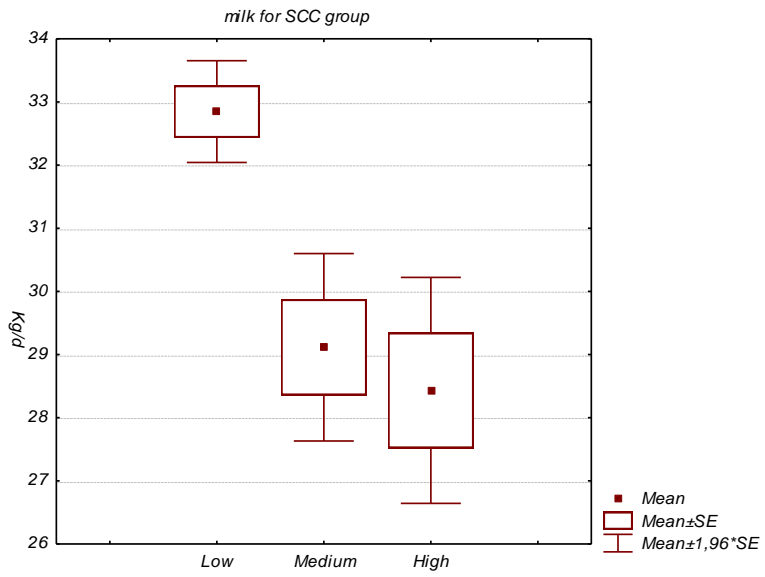




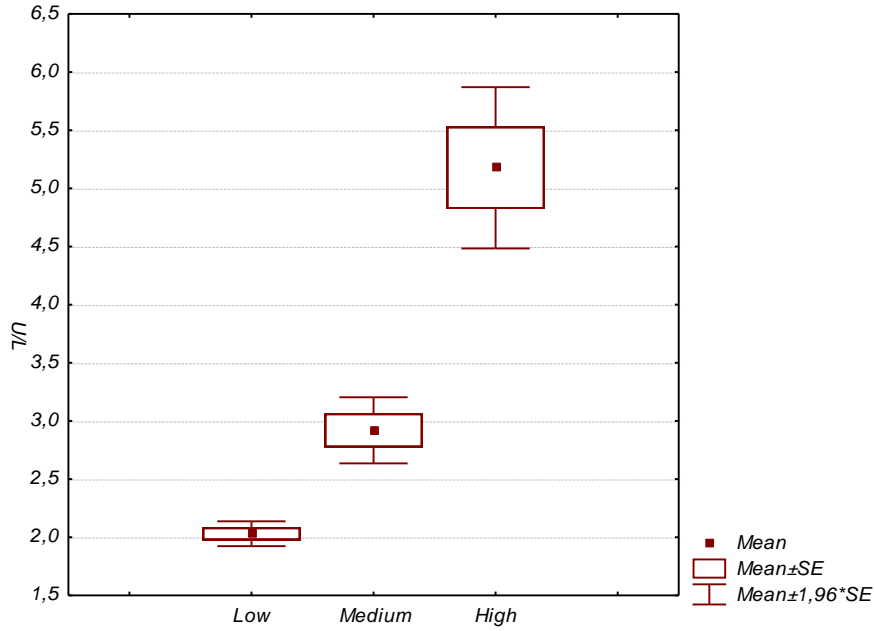




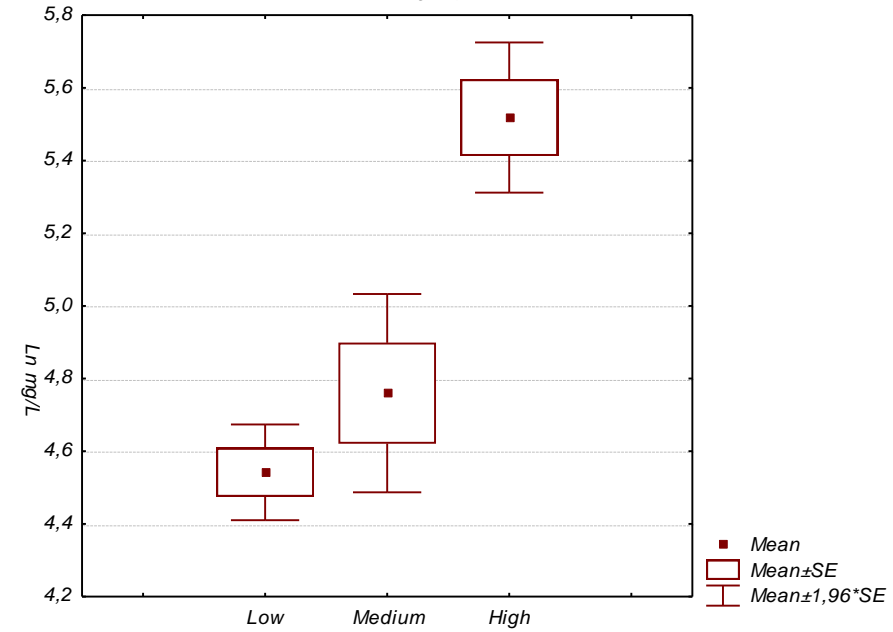




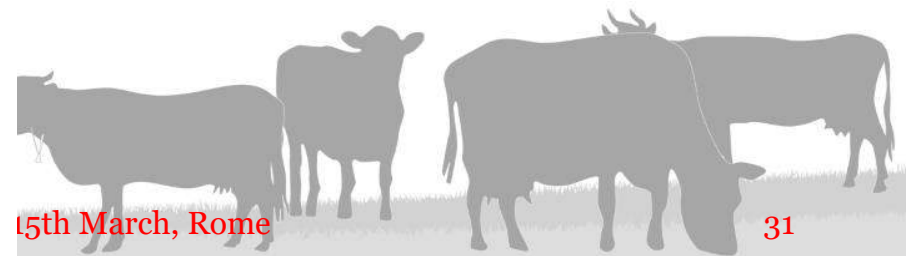
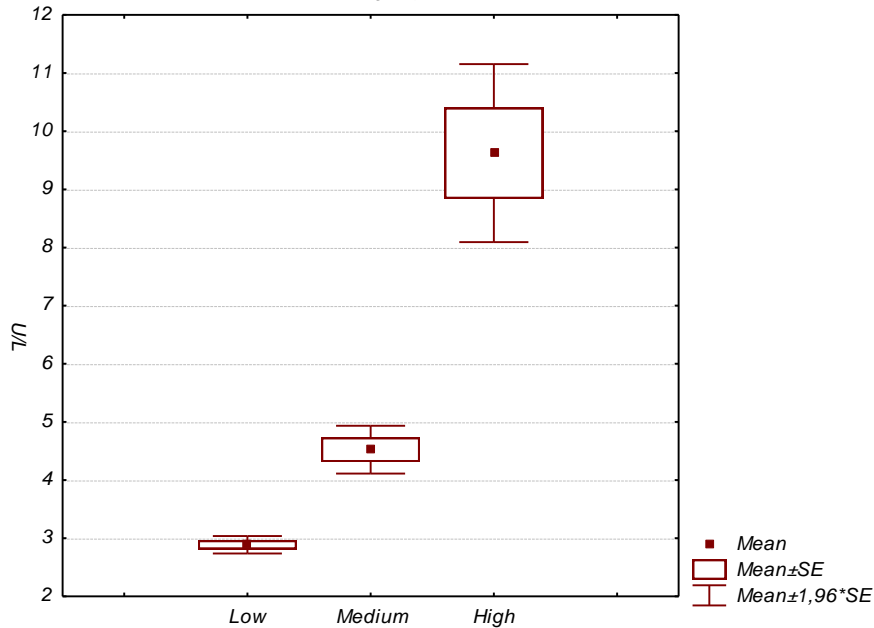
NAGase for group SCC



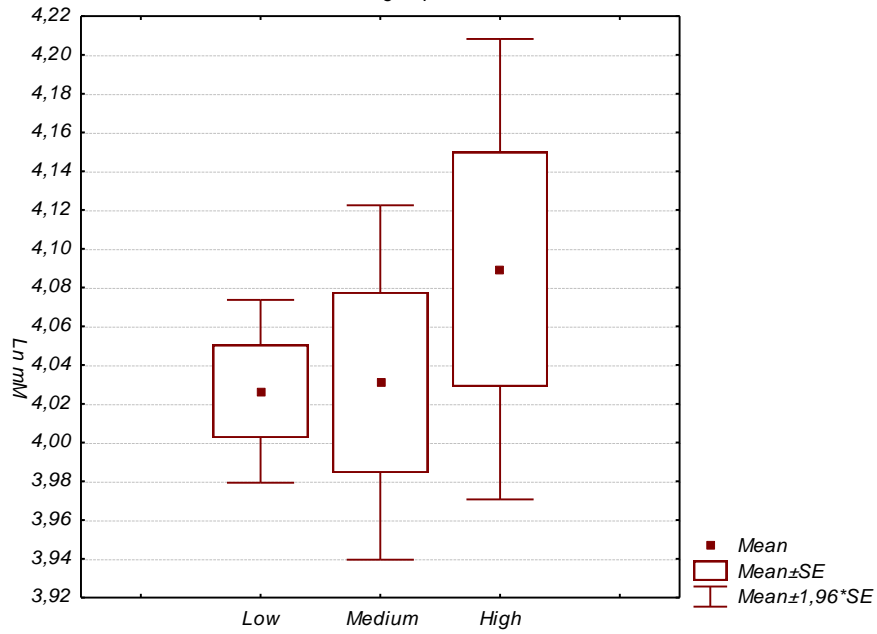
Lactoferrin for SCC group



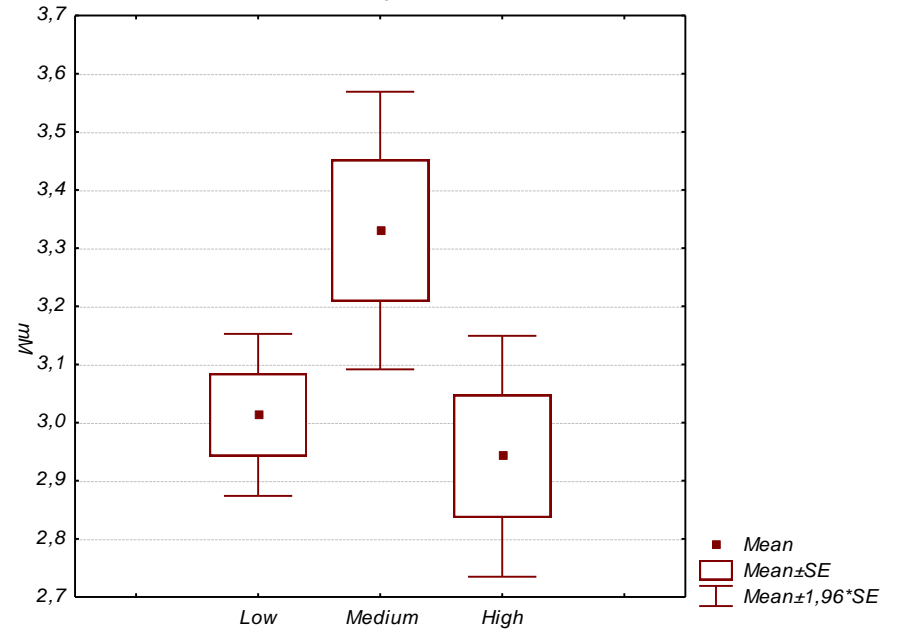
LDH for SCC group



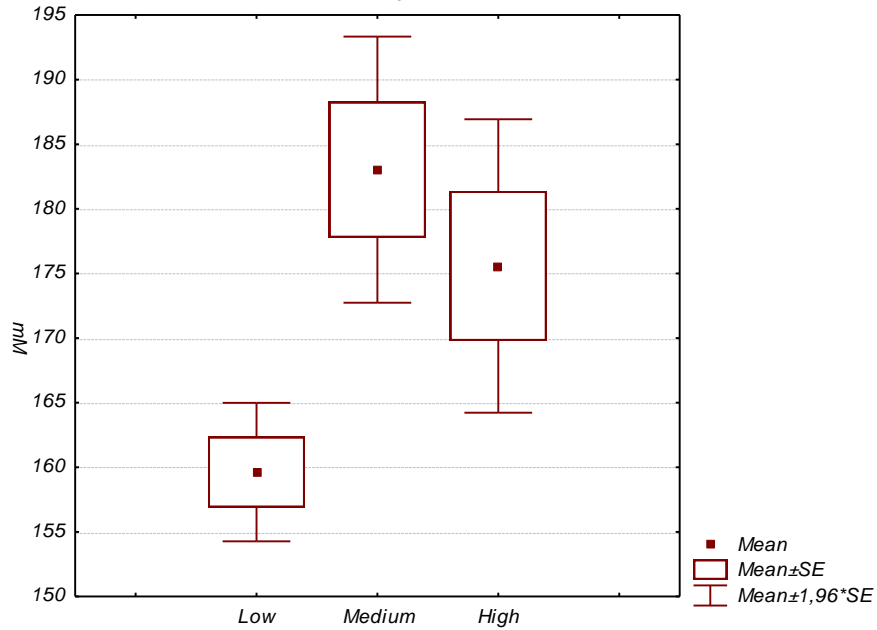
BOHB for SCC group



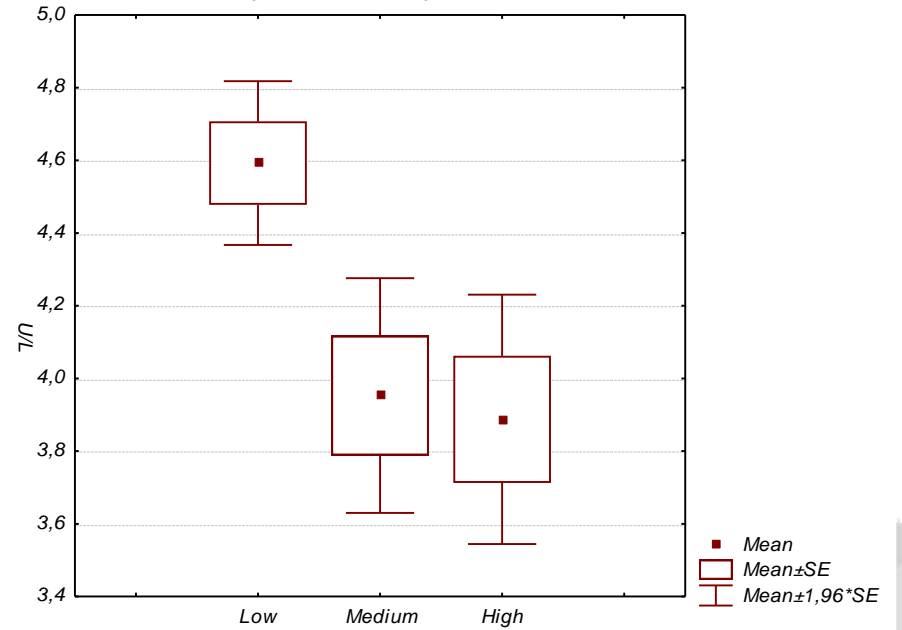
Urea for SCC group

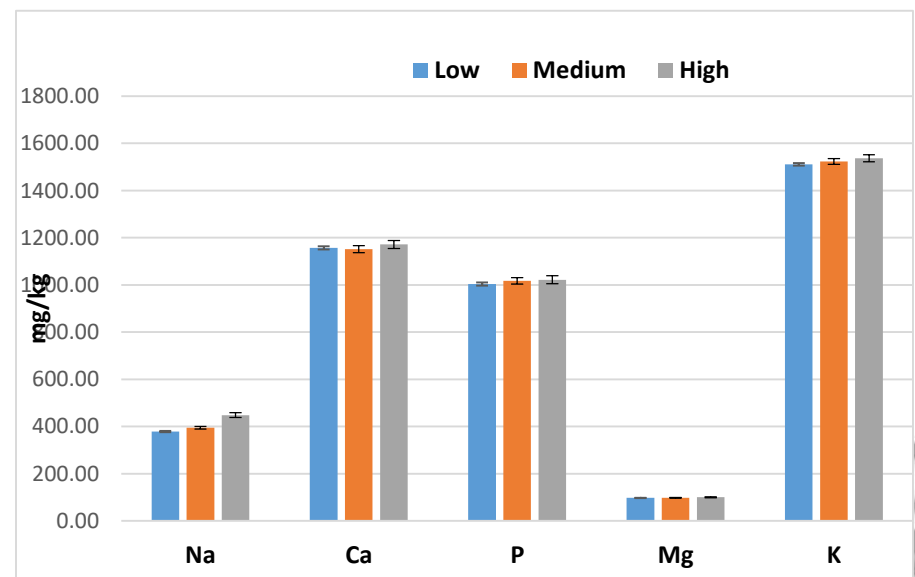
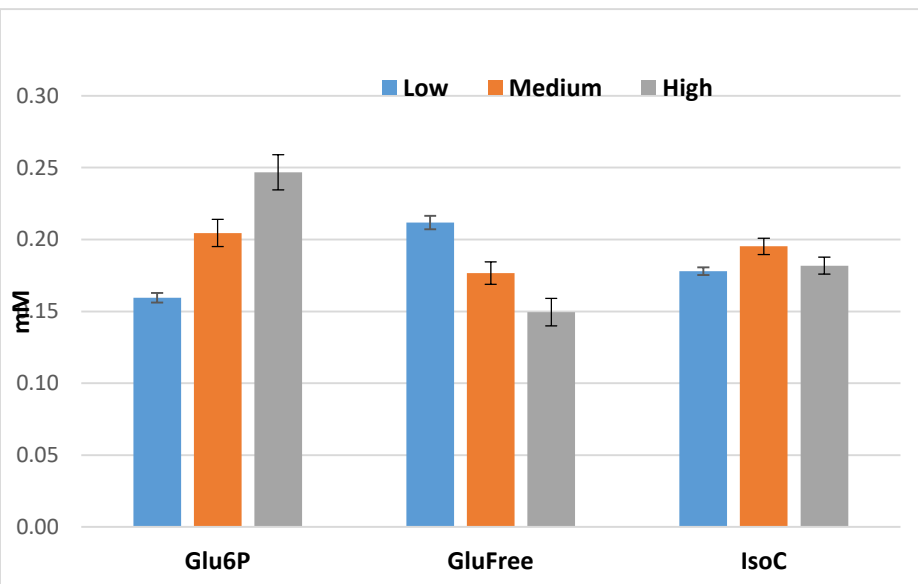
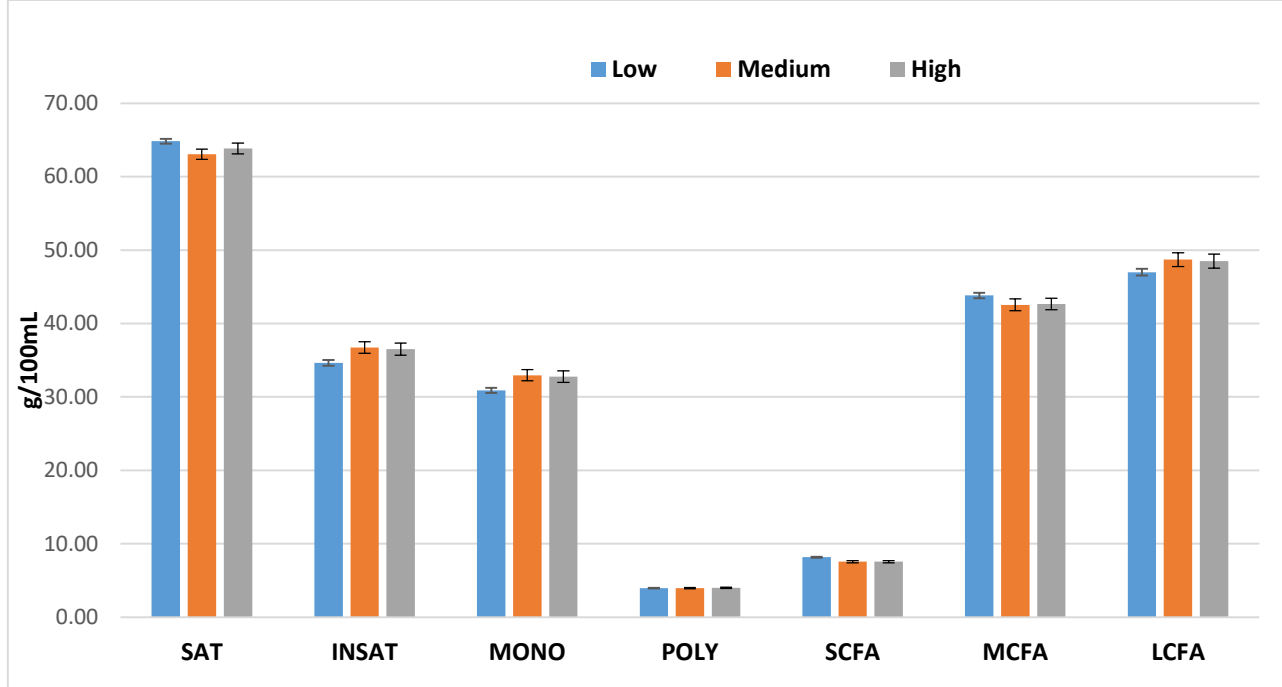


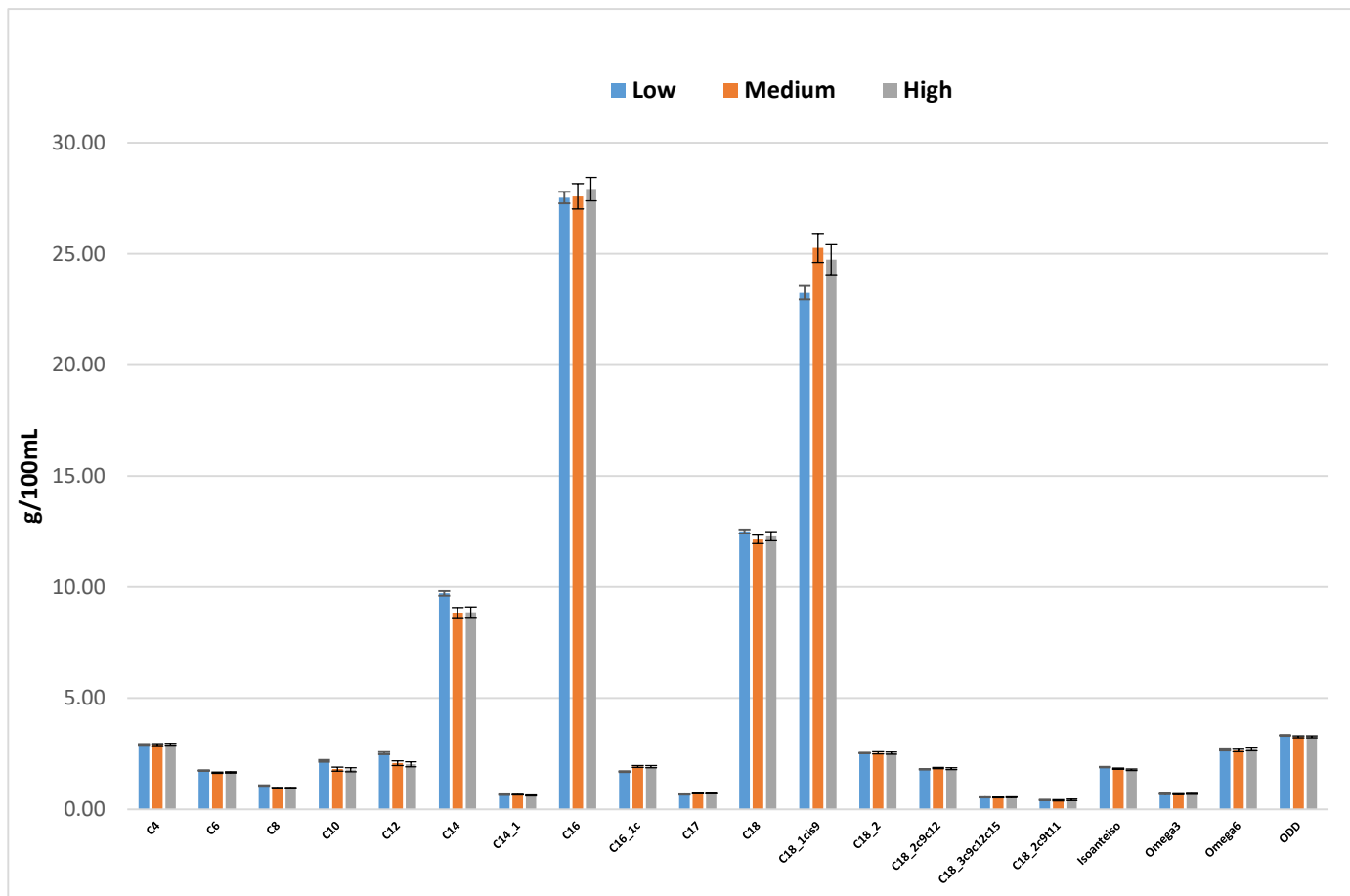
Uric acid for SCC group



Progesterone for SCC group







Results MIXED GLM Model 1

Item	Obs	MSE	Country	Parity	Control	LevelSCC	LevelSCC		
			P value				High	Medium	Low
Milk (Kg/d)	623	35.6	***	***	***	***	27.7^c	29.9^b	31.6^a
Fat (g/100mL)	623	0.93	***	↑	***	↑	4.42 ^{AB}	4.55 ^A	4.35 ^B
Protein (g/100mL)	623	0.06	***	-	***	-	3.28	3.24	3.23
Lactose (g/100mL)	548	0.04	↑	***	***	***	4.56^b	4.71^a	4.70^a
Glu6P (mM)	623	0.004	***	**	***	***	0.245^a	0.204^b	0.182^c
GluFree (mM)	623	0.005	***	***	***	***	0.185^{bB}	0.201^{bA}	0.218^a
BOBH (Ln mM)	623	0.18	***	***	-	-	4.01	4.01	3.94
IsoC (mM)	623	0.002	***	-	***	↑	0.178 ^B	0.193 ^A	0.186 ^{AB}
Urea (mM)	619	0.95	***	*	↑	-	2.88^b	3.13^a	3.13^a
NAGase (U/L)	623	1.83	***	**	***	***	4.79^a	2.75^b	2.34^c
LDH (U/L)	623	8.17	***	***	***	***	8.89^a	4.27^b	3.27^c
Uric acid (mM)	622	2429	***	-	***	-	162	165	165
Prog (U/L)	622	4.14	*	-	***	↑	4.02^b	4.18^{ab}	4.54^a

↑ $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ A, B: $P < 0.10$; a, b, c: $P < 0.05$ - MSE: Mean Standard Error



Results MIXED GLM Model 2

Item	Obs	MSE	Country	Parity	Control	LevelSC C	LevelSCC		
(g/100mL)			P value				High	Medium	Low
C4 : 0	458	0.11	***	*	***	-	2.89	2.87	2.94
C6 : 0	458	0.04	***	*	***	†	1.70 ab	1.67 b	1.72 a
C8 : 0	458	0.04	***	***	***	†	1.03 ^{AB}	1.01 ^B	1.05 ^A
C10 : 0	458	0.46	***	***	***	-	2.12	2.07	2.15
C12 : 0	458	0.68	***	***	***	-	2.46	2.40	2.48
C14 : 0	458	2.67	***	***	***	-	9.58	9.27	9.48
C14 : 1 cis	458	0.03	***	***	***	-	0.66	0.67	0.64
C16 : 0	458	14.2	***	***	***	†	28.0 ^A	27.3 ^{AB}	27.0 ^B
C16 : 1 cis	458	0.10	***	**	***	-	1.76 ^{AB}	1.81 ^A	1.74 ^B
C17 : 0	458	0.002	***	*	***	-	0.685	0.683	0.680
C18 : 0	458	1.96	***	***	***	†	12.23 b	12.42 ab	12.63 a
Tot C18 : 1 trans	458	0.79	***	**	**	†	3.12 ^B	3.09 ^b	3.33 ^{aA}
C18 : 1 cis-9	458	20.7	***	***	***	†	23.3 b	24.8 a	24.1 ab
Tot C18 : 1 cis	458	23.2	***	***	***	†	25.0 b	26.6 a	25.8 ab

† $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ A, B: $P < 0.10$; a, b, c: $P < 0.05$ - MSE: Mean Standard Error



Results MIXED GLM Model 3

Item	Obs	MSE	Country	Parity	Control	LevelSCC	LevelSCC		
(g/100mL)			P value				High	Medium	Low
C18 : 2	458	0.10	***	†	***	-	2.51	2.53	2.55
C18 : 2 cis-9,cis-12	458	0.07	***	-	***	-	1.76	1.81	1.79
C18 : 3 cis-9,cis-12,cis-15	458	0.01	***	-	**	-	0.54	0.53	0.55
C18 : 2 cis-9,trans-11	458	0.05	***	***	***	-	0.47	0.41	0.46
Saturated FA	458	25.7	***	***	***	†	64.8 ^A	63.2 ^B	63.8 ^{AB}
MUFA	458	27.1	***	***	***	-	31.0	32.3	31.8
PUFA	458	0.47	***	-	***	-	3.97	3.91	4.00
Unsaturated FA	458	31.0	***	***	***	-	34.8	36.1	35.7
Short chain	458	1.28	***	**	***	†	7.95 ^{ab}	7.80 ^b	8.09 ^a
Medium chain	458	30.1	***	***	***	-	44.2	43.3	43.0
Long chain	458	41.4	***	***	***	-	46.8	48.1	48.0
Isoanteiso	458	0.05	***	***	***	-	1.88	1.91	1.93
Omega3	458	0.02	***	-	***	-	0.69	0.69	0.70
Omega6	458	0.22	***	-	***	-	2.68	2.66	2.68
ODD	458	0.11	***	*	-	-	3.39	3.33	3.36
Total trans	458	1.07	***	**	***	†	3.96 ^{AB}	3.89 ^B	4.14 ^A
Tot C18 : 1	458	26.1	***	***	***	-	27.9	29.2	28.8

† $P < 0.10$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ A, B: $P < 0.10$; a, b, c: $P < 0.05$ - MSE: Mean Standard Error



Results MIXED GLM Model 4

Item	Obs	MSE	Country	Parity	Control	LevelSCC	LevelSCC		
			P value				High	Medium	Low
Acetone (mM)	458	0.01	***	-	***	-	0.10	0.10	0.11
Citrates (mM)	458	3.16	***	-	***	-	9.13	9.65	9.43
Na (mg/Kg)	458	2069	***	***	***	***	423^a	379^b	380^b
Ca (mg/Kg)	458	6863	***	*	***	-	1189	1194	1186
P (mg/Kg)	458	6159	***	***	***	-	1048	1047	1040
Mg (mg/Kg)	458	73	***	***	***	-	103	103	101
K (mg/Kg)	458	10343	***	-	***	-	1533	1506	1511
Lactoferrin (Ln mg/L)	458	0.83	***	***	-	***	5.14^a	4.54^b	4.40^b

† P < 0.10; * P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001 A, B: P < 0.10; a, b, c: P < 0.05 - MSE: Mean Standard Error

Probability of Squared Mahalanobis Distances from Group Centroids

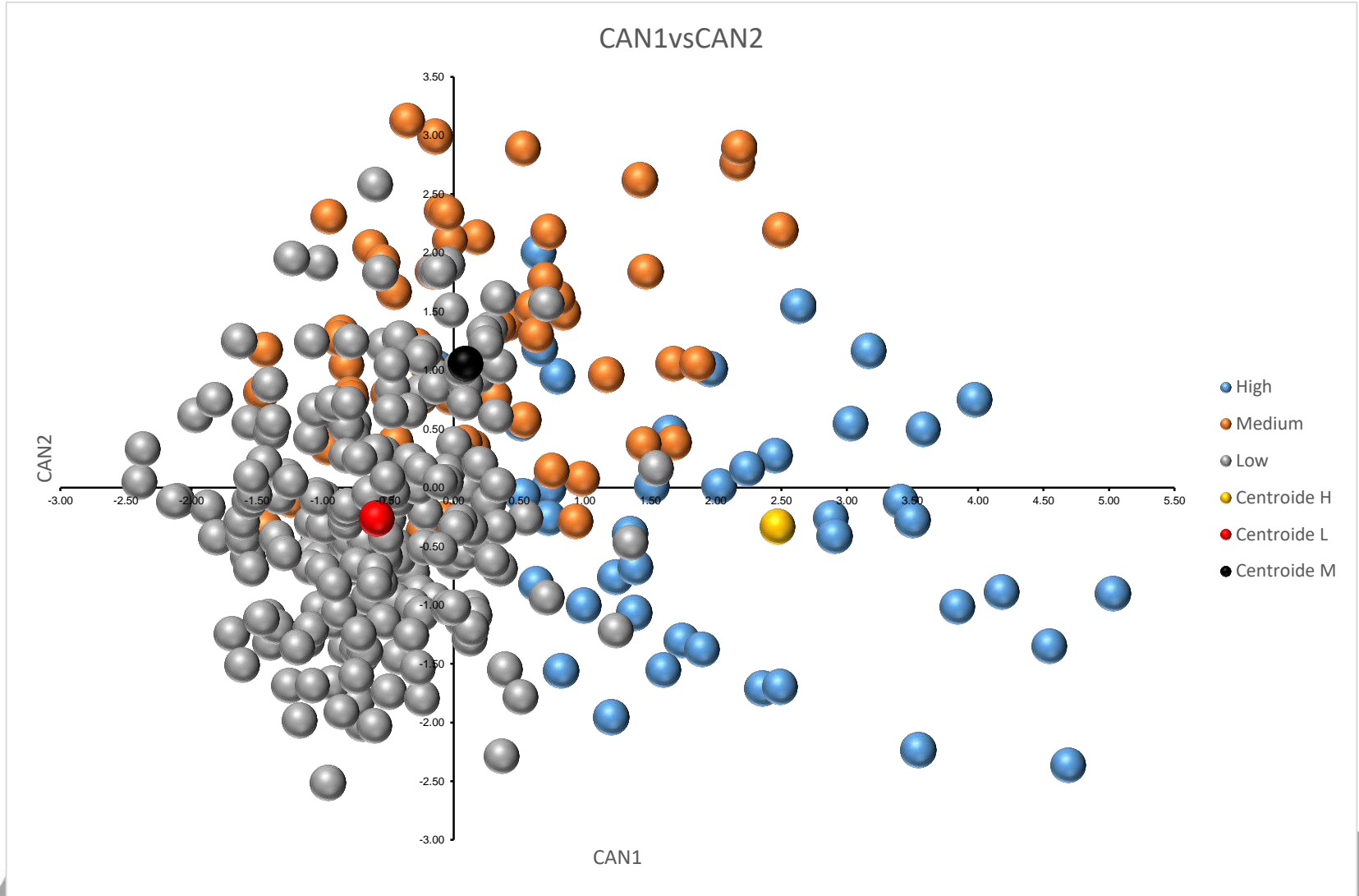
	High	Low	Medium
High		1 <0.0001	<0.0001
Low	<0.0001		1 0.0034
Medium	<0.0001	0.0034	

Means of canonical variables		
Level of SCC	CAN1	CAN2
High	2.465165677	0.327927842
Low	-0.590065092	-0.260538740
Medium	-0.090555117	1.058023534

Canonical value for each parametrs		
Parameter	CAN1	CAN2
Lactose	-0.564684	0.045324
Glu6P	0.349871	0.216814
GluFree	-0.335007	-0.168792
NAGase	0.771869	0.164023
LDH	0.754325	0.118632
UA	0.157246	0.331553
C6	-0.157874	-0.323452
C8	-0.258505	-0.351560
C10	-0.283858	-0.302762
C12	-0.299859	-0.291549
C14	-0.287792	-0.332479
C16_1c	0.300750	0.351455
C17	0.324596	0.465606
SCFA	-0.242498	-0.354935
Na	0.626149	0.028929
LnLactoferrin	0.457146	0.053706



Results of CANDISC



Acknowledgement

Italy

Napolitano Francesco, Signorelli Federica, Luca Buttazzoni, Angelo e Enrico Scorsolini

Belgium

Clément Grelet, Nicolas Gengler, Frédéric Dehareng, Hélène Soyeurt, Miel Hostens

Denmark

Klaus Lønne Ingvarsen, Martin Tang Sørensen, Torben Larsen

Mark Crowe, coordinator of GplusE



Acknowledgement



A new approach to selective Dry Cow Treatment

S.Friedman¹, D.Minis¹, M.Frid¹, S.Shainin², A.Shwimer¹

1 -IDB -Israel dairy BOARD

2- "HACHKLAIT" & KORET VET. SCHOOL



ISRAEL DAIRY BOARD



Important facts regarding the Israeli dairy FARMING management

HIGH YIELD COWS

TMR- nutrition system

3X milking /day

INTENSIVE PRODUCTION

NO GRAZING

HOT/HUMIDE WHETHER (7 month)

USE OF COOLING SYSTEMS

Mostly Open compost barn

15-20 sq.m. /COW



Milk production 2017

- ▶ 760 dairy cows farms (130,000 cows)
- ▶ Production– 1,5 Billion liter/year
- ▶ Average milk production 12,000 liter/cow/year
- ▶ **In Israel we still have the Quota system**



Milk production 2017

126 sheep & goats farms (64,000)

- ▶ Sheep milk – 13 million liter/year
- ▶ Goat milk – 17 million liter /year



Mastitis:

- ▶ The inter mammary infection rate in Israel dairy herds in the last years is 30–40% of the cows (mostly environment pathogens).
- ▶ Most of the **clinical infection** occur at the beginning of the lactation(0–60 DIM).
- ▶ The main economic damage (milk losses) occurs before the cow has reached **Peak Production** and therefore some of the cows will not fulfill their potential production level.

Stage of Lactation

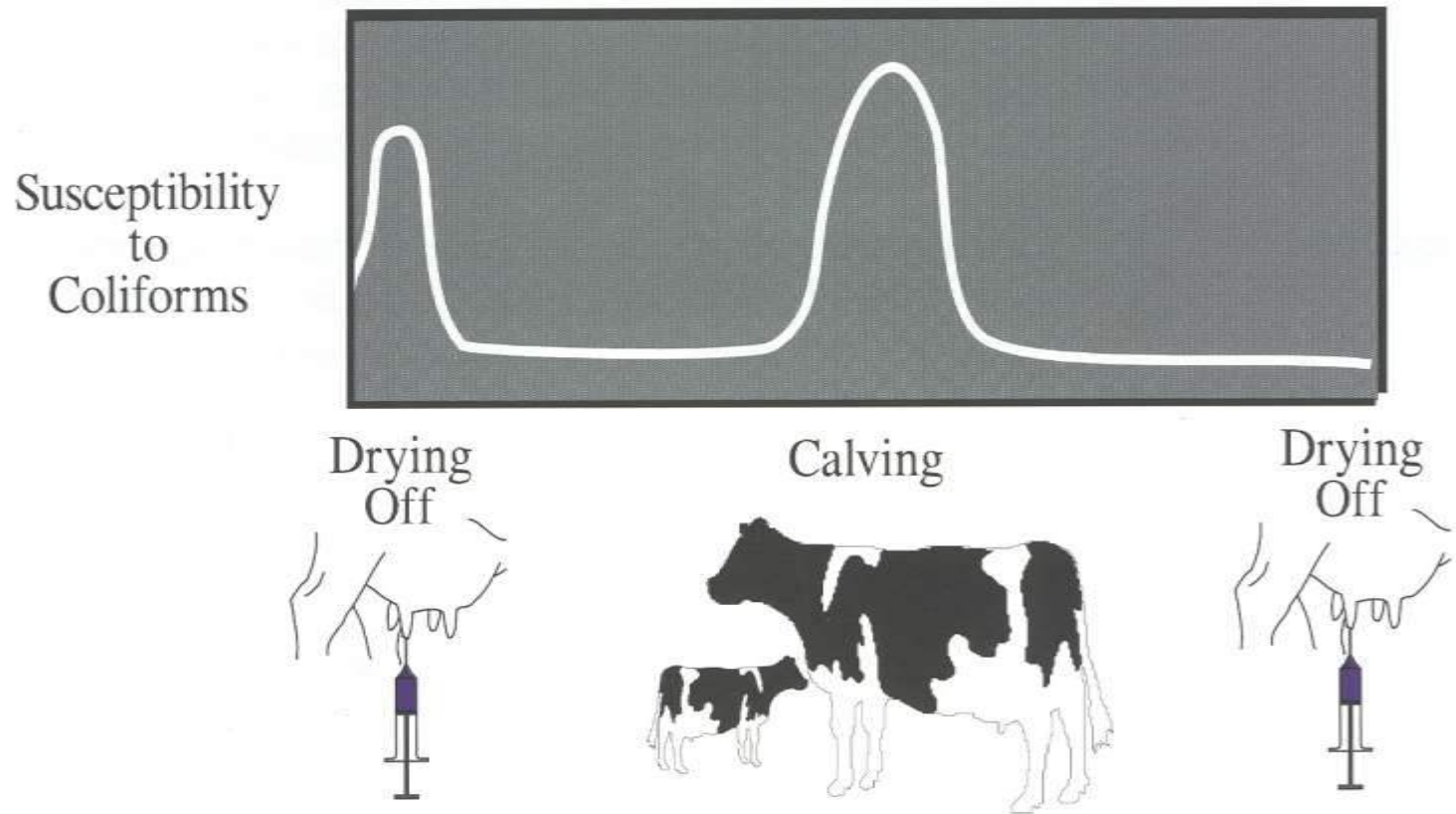


Fig. 6.1 Incidence of new coliform infection is greater during the dry period than during lactation.

THE EFFECT OF **CLINICAL MASTITIS** APPEARANCE ON MILK LOSSES

DAYS AFTER CALVING	MILK LOSSES Kg/DAY	MILK LOSSES (kg) DURING ALL LACTATION
0-60	2.9	870
61-100	1.1	330
> 101	1.6	480

CONTROL GROUP - <200,000 SCC & NO CLINICAL MASTITIS DURING LACTATION

- ▶ One of the main reasons for udder infections directly after calving is an **infected udder during the dry period**
- ▶ Is the dry period a risk factor for udder health?

YES it is !

Trauma of the teat end—a risk factor for new udder infection from *Staph.aureus*

No ring



1 time

Rough ring



2.1 times

Very rough ring



3.5 times

Advantages to **non selective dry cow treatment**:

- ▶ IT is very **easy** to treat all the cows with antibiotic preparation.
- ▶ The drying off process is a combination of **prevention and treatment**.
- ▶ Probably, this is the most effective treatment against udder health infections caused mainly by **Gram positive bacteria**.
- ▶ 50% of the teats **do not close fully up to 10 days after dry treatment**.



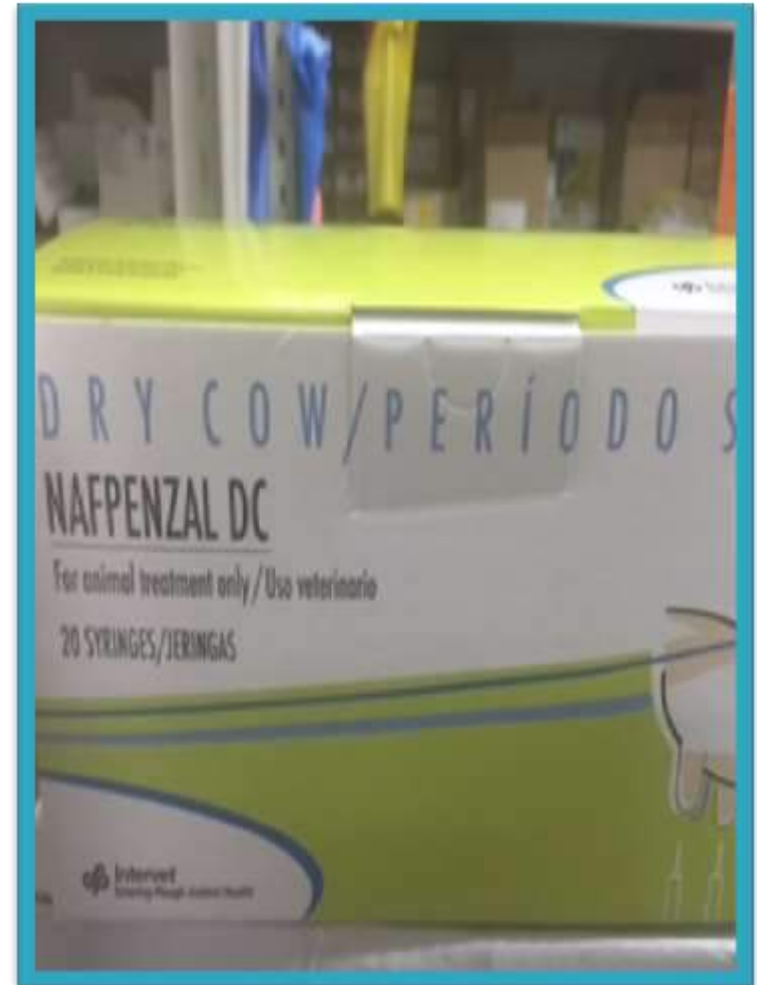


Disadvantages:

- ▶ Antibiotic overdosing ,especially for preventive purposes to **healthy cows** ,are likely to create:
 - ▶ **Antibiotic Resistant Bacteria** populations.
- ▶ Every inter–mammary infusion holds a risk of a new infection.
- ▶ The process requires strict adherence to environmental hygienic practices.
- ▶ It is much more complicated to treat the cow base on evidence....



Common preparations for drying off Treatment in Israel:

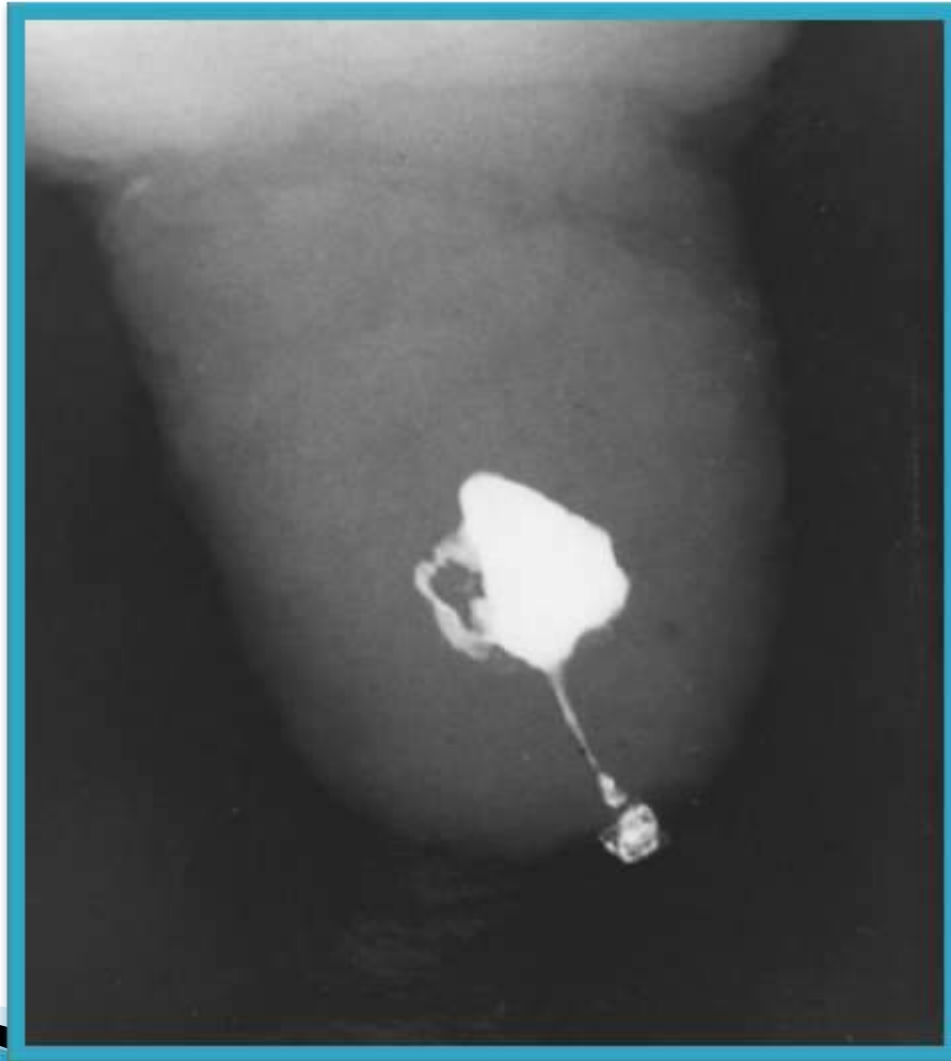


What is an internal “Teat Sealer”?

- A tube of Inert sterile paste that is infused into the teat end in order to create a sealing “plug” in the teat canal during the all dry period.
- ▶ The manufacturer’s recommendation is to infuse the substance immediately after the routine antibiotic treatment.
- ▶ In practice there are **two infusions**.
- ▶ After calving it is necessary to remove the “plug” by manually stripping the teat before attaching the milking machine.



Teat sealer-Radiographic picture



Orbeseal® Dry Cow Teat Sealant



Field study - Targets;

- ▶ **To reduce the use of antibiotics** without harming the cow/ udder health.
- ▶ To facilitate different therapeutic solutions on **quarter level** at the same udder, based on findings and parameters that will be verified before and during the dry of treatment.
- ▶ To find if this new selective treatment protocol can be **adopted by the farmers**.



Materials and methods:

- ▶ The field trial was based on **280 Cows** on a commercial dairy farm (production of 3,500,000 liter/ year)



- ▶ The herd is highly monitored –80 incidences of clinical mastitis /300 cows/year
- ▶ Major clinical mastitis pathogens –*E.coli* and various strains of *Streptococcus*.
- ▶ Sub-clinical pathogens– *CNS* , *Corynebacterium bovis*
- ▶ Average DHI SCC during the months tested: 280,000 ml/milk

On the day of drying off the cow's status was defined by the following stages:

- ▶ **Cows historical data:** SCC at the last month DHI.
No. of Clinical mastitis/year.
Milk leaking historical events.
Present “dry quarters”.
- ▶ **Physical examination** :Teat end scoring
CMT
Bacteriology results *
- ▶ **Status definition per cow:** “Healthy” or “Unhealthy”
- ▶ *A week before Milk bacteriology sampling












Milking leaking in 3 Quarters...



Teat end scoring:

A scoring system for teat-end condition (Mein et al. 2001)

Score	Description	Illustration
N	No ring The teat-end is smooth with a small, even orifice. This is a typical status for many teats soon after the start of lactation	 
S	Smooth or Slightly rough ring A raised ring encircles the orifice. The surface of the ring is smooth or it may feel slightly rough but no fronds of old keratin are evident.	  
R	Rough ring A raised, roughened ring with isolated fronds or mounds of old keratin extending 1 - 3 mm from the orifice.	 
VR	Very Rough ring A raised ring with rough fronds or mounds of old keratin extending 4 mm or more from the orifice. The rim of the ring is rough and cracked, often giving the teat-end a "flowered" appearance.	 

Status Definition Per Cow:

6 Parameters

Status	Last Scc DHI	CMT	No. clinical mastitis in the last lactation	Teat end score	Milk leaking	“Dry quarter’s”
HEALTHY	<200,000	0-1	0-1	0-1	NEGATIVE	NEGATIVE
“UNHEALTHY”	>200,000	2-4	>2	>2	POSITIVE	POSITIVE



Dry cow treatment by status definition

Status definition –Day of drying off

“Unhealthy”

Antibiotic

Antibiotic

Teat Seal

“Healthy”

Antibiotic

Teat Seal

No treatment



During the "Dry Period" (50 - 60 days)

Cows' health monitored for 7 days in the beginning of dry period and 2 weeks before calving by:

Pedometer:



Visual observation:



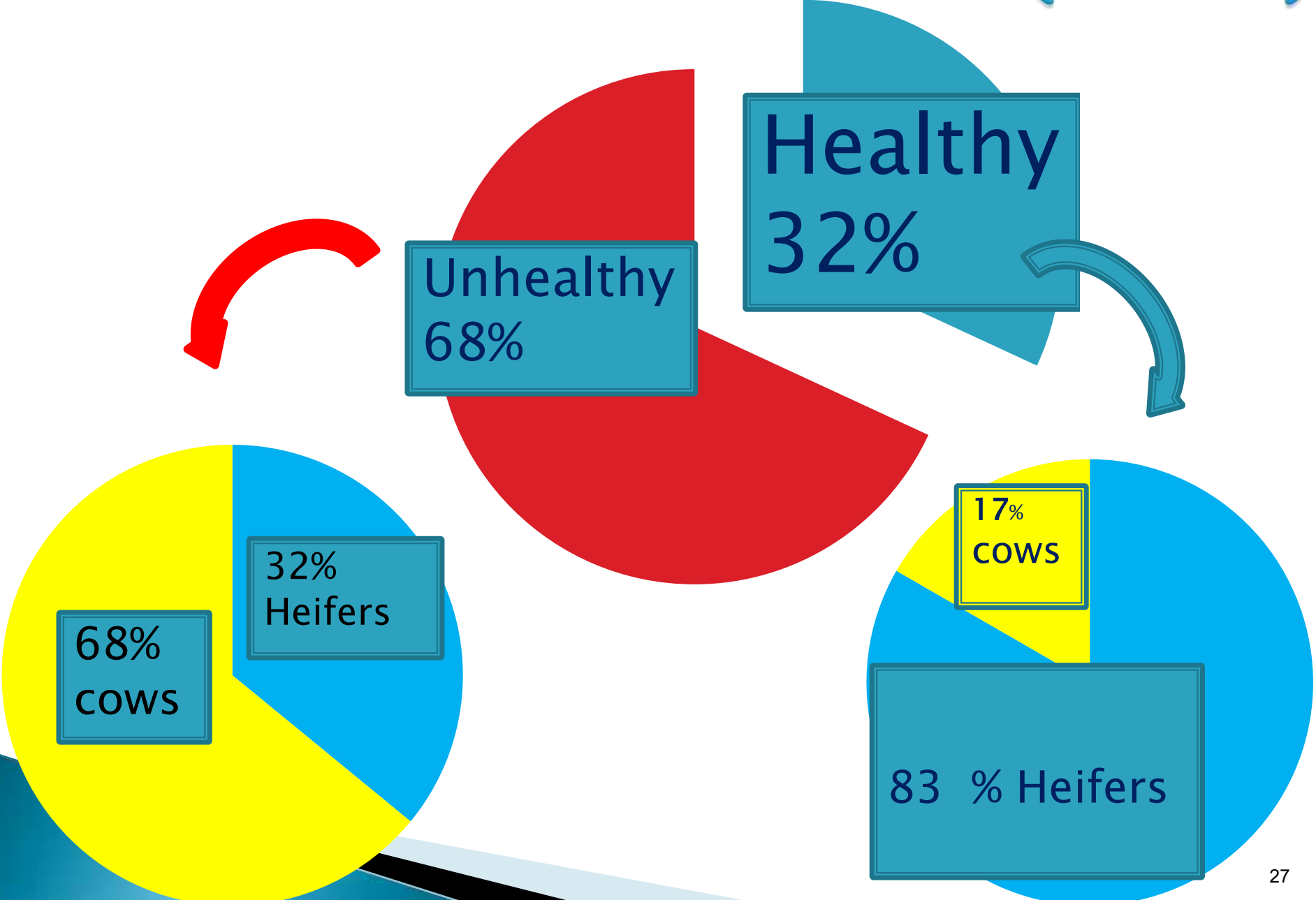
Post Partum: (5 - 7 days)

All cows were checked:

- CMT and bacteriological sampling from all four quarter's.
- SCC at first DHI test,
- New case of clinical mastitis (45 days post partum).
- Culling resulting from an udder infection.
- ALL the Results were analyzed by SAS 9.3



Results-Cow Distribution (n=282)



Distribution of bacteriological findings before drying-off:

- ▶ 54% – "no growth"
- ▶ 19%– *Corynebacterium bovis*
- ▶ 12%– CNS
- ▶ 12% "no pathogens" –
- ▶ 3% other.
- ▶ Other:
 - Contaminated samples, *Bacillus*, *E. Coli*, other *Streps.*, *Corynebacterium jeikeium*, no pathogen, *Mucoidic CNS*, *Proteus Vulgaris*, *Staph. Aureus*, *Typhimurium pyogenes*, *Strep dysgalactiae*.



Definition of Success or Failure

▶ **New Infection:**

Success – No bacteria isolated **before** drying-off and **post partum**.

Failure – No **bacteria** isolated before drying-off but a new bacteria was isolated post partum.

➤ **Recovery:**

Success – Bacteria isolated before drying-off but **NOT** isolated post partum.

Failure – Bacteria isolated before drying-off and post partum.



Teat end defects

Is there a connection between the lactation number and teat end defects ?			
Teat end defect	Lactation		Total
	1	≥ 2	
No serious defect	111 (66.5)	56 (33.5)	167 (59.2)
Serious quarter defect	33 (28.7)	82 (71.3)	115 (40.8)
Chi-square	P < 0.0001		

Teat end defects were significantly higher in mature cows (≥ 2) than in first calve heifers.



Results by quarter in "Healthy Cows"

Prevention of new infections: there was a small advantage using antibiotics and a teat seal, but this advantage was not significant.(n=290)

Bacterial Recovery: there was a small advantage using antibiotics and a teat seal, but this advantage was not significant (n=56)

Based on the results of the experiment, new infections and bacterial recovery occurred similarly in cows with no "dry treatment" and cows treated inter-mammary with only antibiotics or a teat seal.

Results by quarter (no 444) in “unhealthy” cows-Preventing

There was a significant difference in **preventing new infections** between the two treatment groups

Treatment	Success	Failure
Only antibiotics	81.5%	18.5%
Antibiotics and a Teat Seal	96.0%	4.0%

Without a teat seal, the risk for a new bacterial infection in the presence of an inter mammary antibiotic preparation in the udder is significantly **five times higher** in relation to cows with a combination of antibiotics and a teat seal.

Recovery rate in the “unhealthy” cows

Bacteriological recovery was 2.4 times more effective with combination of antibiotics and a teat seal than treatment only with an antibiotic preparation.

Treatment	Success	Failure
Only antibiotics	84.1%	15.9%
Antibiotics and a Teat Seal	92.7%	7.4%

conclusion:

It was found that in some of the "healthy" cows' that treatment was sufficient using only a teat seal. The above mentioned is according to the status of the infection in the herd and the ability of the dairy farmer to determine at real time, an evaluation of the cow's "status" on the day of drying-off.

In "unhealthy" cows it was found that that the teat seal was significantly **five times** more effective than an antibiotic inter mammary preparation.

In "unhealthy" cows it was found that that the teat seal, in conjunction with an inter-mammary antibiotic preparation, was significantly **2.4 times** more effective than only an antibiotic inter-mammary preparation.

In 93% of the bacterial recovery the bacteria were either CNS or *Corynebacterium bovis*.



Economic Value Calculation



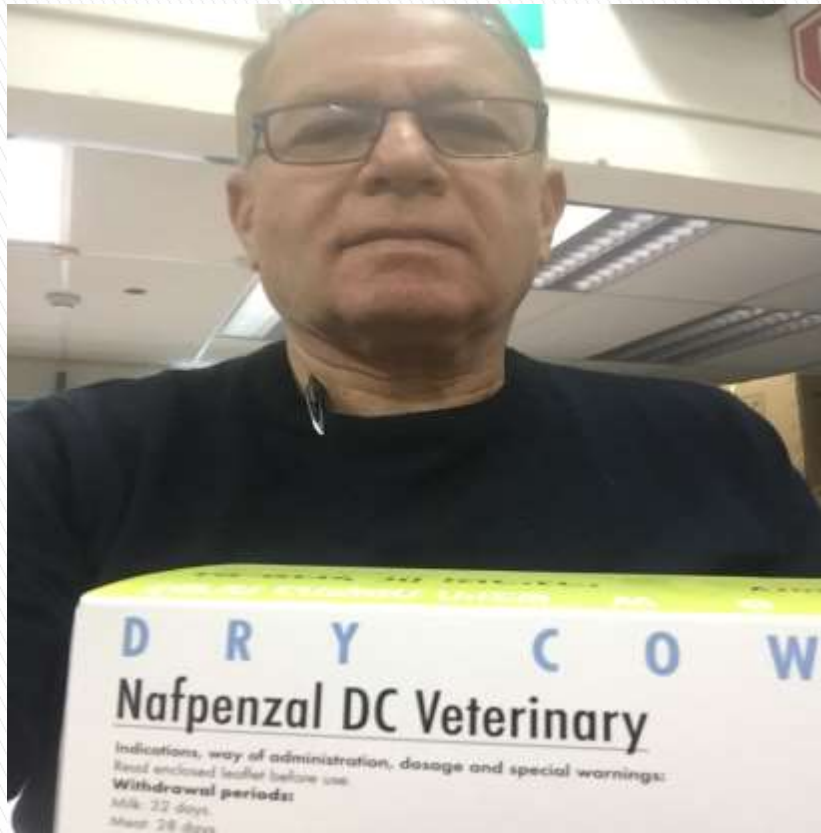
- ▶ **NNT – Number Needed to Treat value calculation**
The value gives the number of quarters that need to be treated in order to prevent **one new udder infection.**
- ▶ **Cost of one teat sealant syringe in Israel –2.5\$**
- ▶ **US\$ 2.5 * 7 quarters =17.5\$**
- ▶ **US\$ 17.5 – Cost of preventing a new infection in an "unhealthy" cow by using a teat seal.**
- ▶ **The cost of 17.5\$ To prevent 180 \$ damage of one clinical mastitis event**

Recommendations:

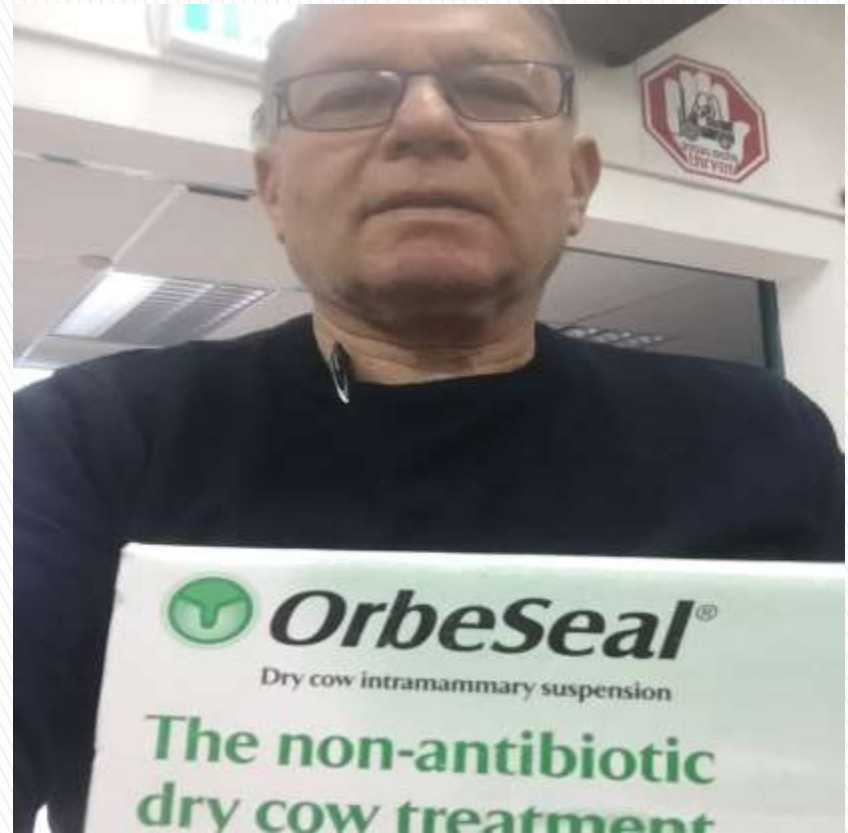
- ▶ This new method of work incorporates the dairy farmer's desertion in deciding how to treat the herd, cow and quarter.
- ▶ Before drying-off the cow, the farmer must perform the **necessary checks** before reaching a decision, and only thereafter choose from the "**treatment menu**" the suitable treatment at the quarter/cow level.



4 Selective dry cow treatments based on quarter level evidences



Only Antibiotic



Only teat sealant



Antibiotic + Teat Sealant



No treatment

- ▶ It is necessary to monitor the cow **after Drying-Off and Calving** in order to diagnose changes in the udder infection status, and the effectiveness of the chosen treatment.
- ▶ **25%–30% Reduction** in the use of antibiotics is estimated without affecting udder and/or public health

Acknowledgements:

To the Netzer Sireni Kibbutz for the fruitful long-time cooperation.



The study was financed by the Research Foundation of the Israel Dairy Board



NEW APPROACH FOR MEDICAL TREATMENT IN CONTROL OF MASTITIS PAIN

HONIG HEN, DVM, DIP. ECWEL

2

THE FIVE FREEDOM

- 1. Freedom from Hunger and Thirst
- 2. Freedom from Discomfort
- 3. Freedom from Pain, Injury or Disease
- 4. Freedom to Express Normal Behavior
- 5. Freedom from Fear and Distress

3 ASSESSMENT OF ANIMAL BEHAVIOR



- Automated Monitoring of Dairy Cows' Behavioral (locomotion and feeding) Patterns as a Tool

4 MONITOR BEHAVIOR



- Monitoring Feeding Behavior of Dairy Cows Using Accelerometers

5 MONITOR BEHAVIOR



- Different type
- Different location

6

MONITOR PHYSIOLOGICAL PARAMETERS

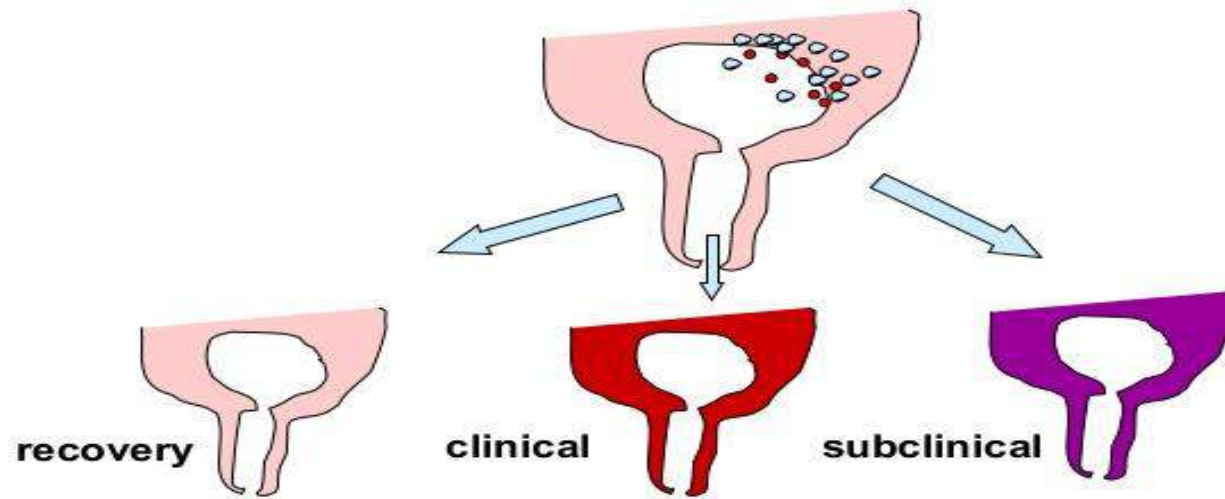


7 MASTITIS

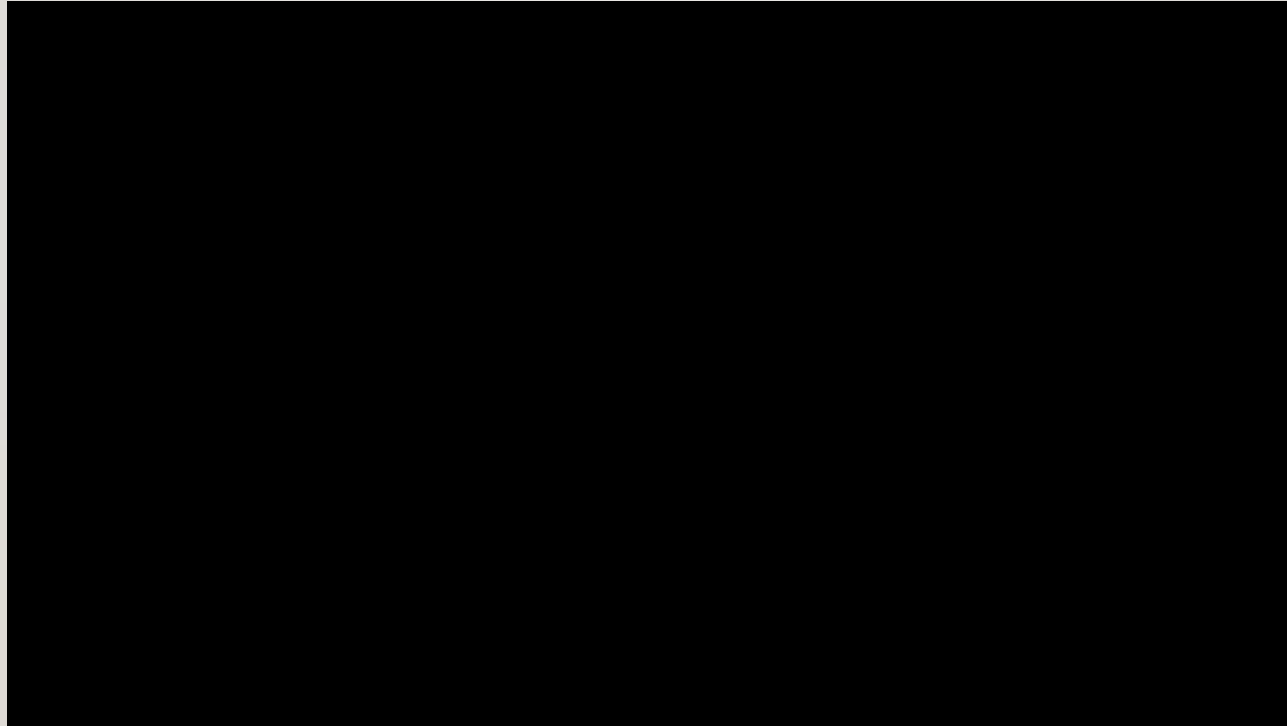


8 MASTITIS

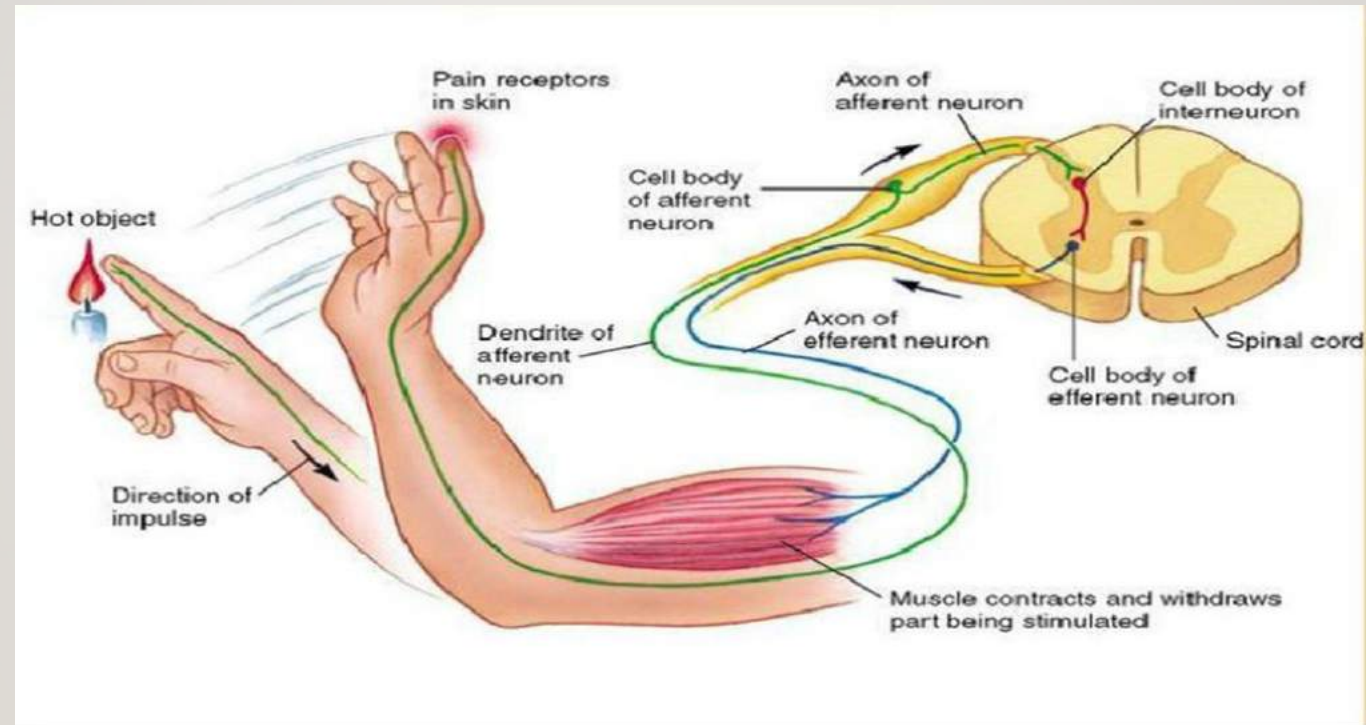
The cow's immune system send white blood cells (Somatic cells) to fight the organisms



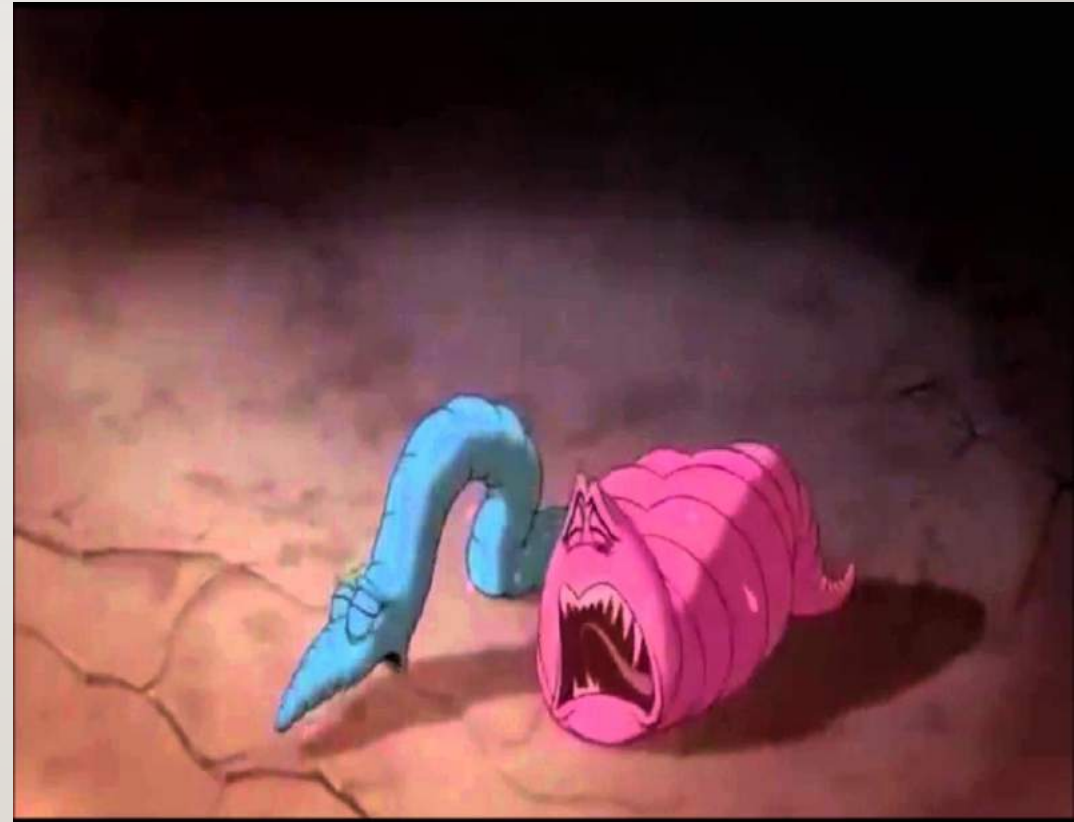
PAIN



10 NOCICEPTION



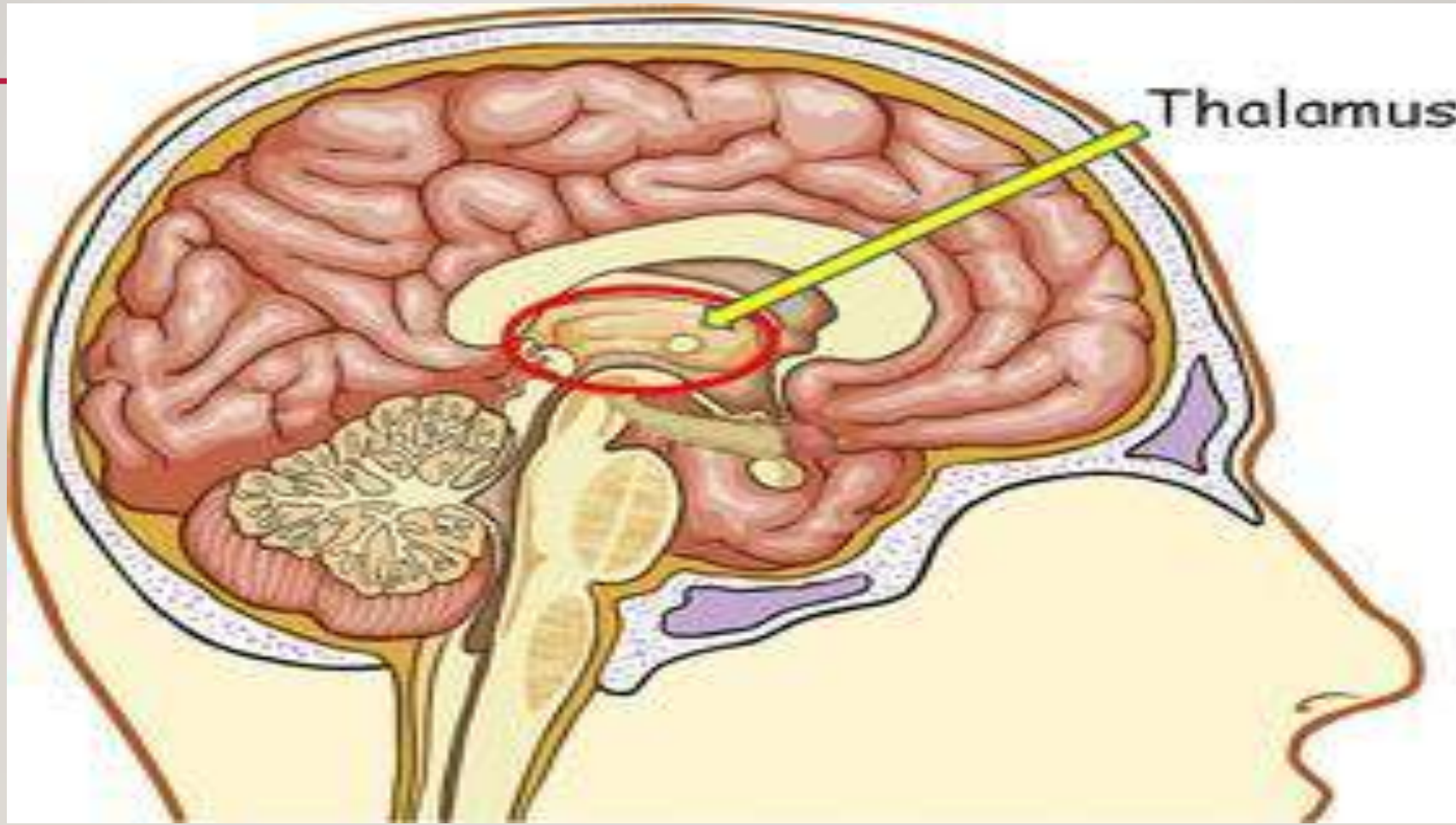
|| PROPRIOCEPTION



12 EXPRESSION OF PAIN



13 MEMORY OF PAIN



THE 5 KINDS OF PAIN

14

PHYSICAL PAIN

EMOTIONAL PAIN

TEMPORARY

IMAGINARY

SELF-INFLICTED

PPFFT...MUSCLE PAIN. PLEASE LEAVE ME NOW. THANK YOU.

WILL I EVER TRUST ANYONE EVER AGAIN?

BRRRRRAIN FREEEEZE! YIKES!

SIGH.. IT HURTS THAT I CAN'T HAVE CHOCOALTES TODAY...

HMM...I WONDER HOW WAXING FEELS...



1



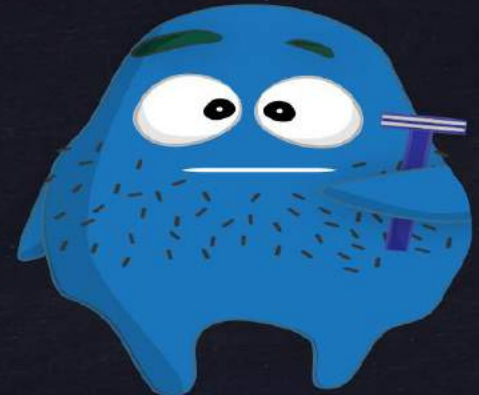
2



3



4

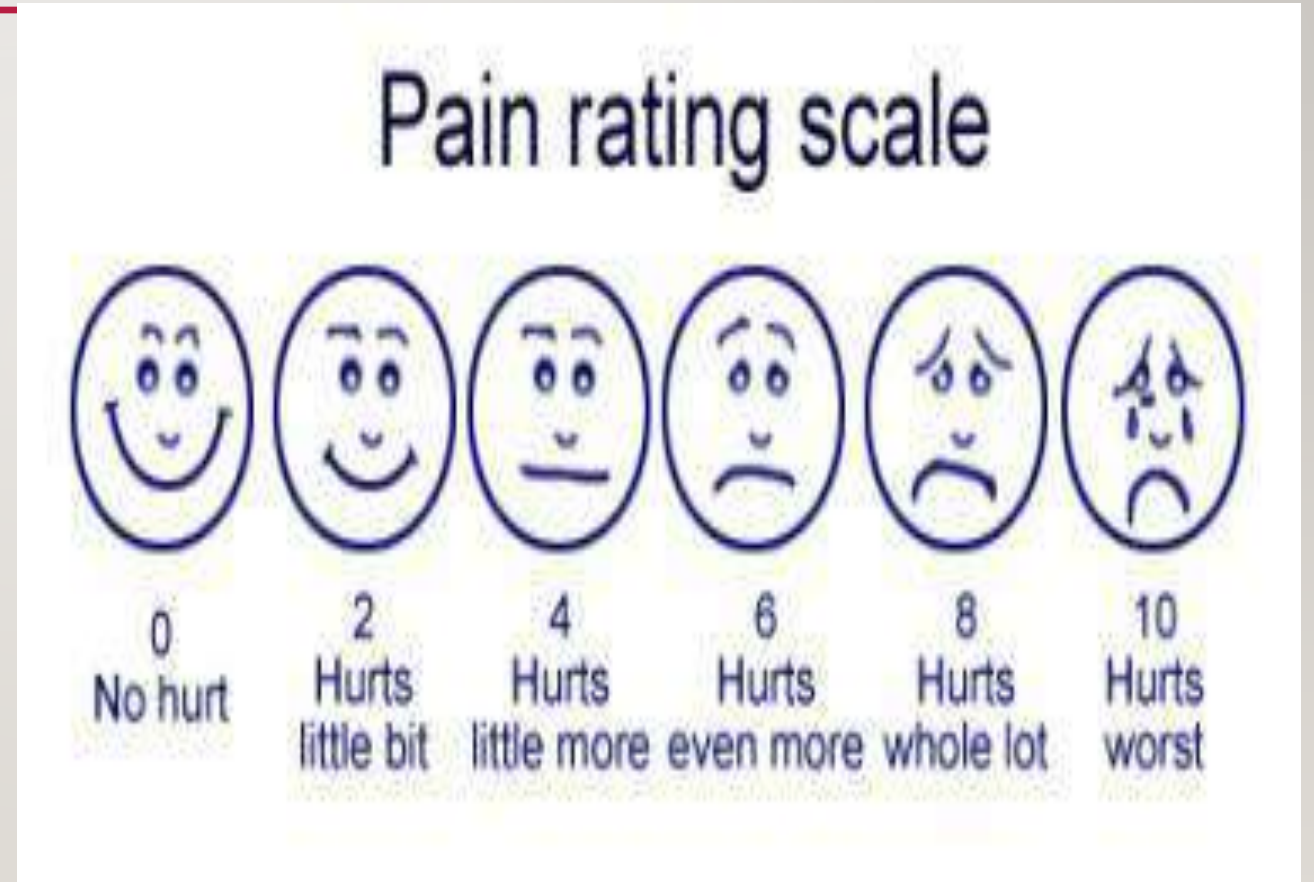


5

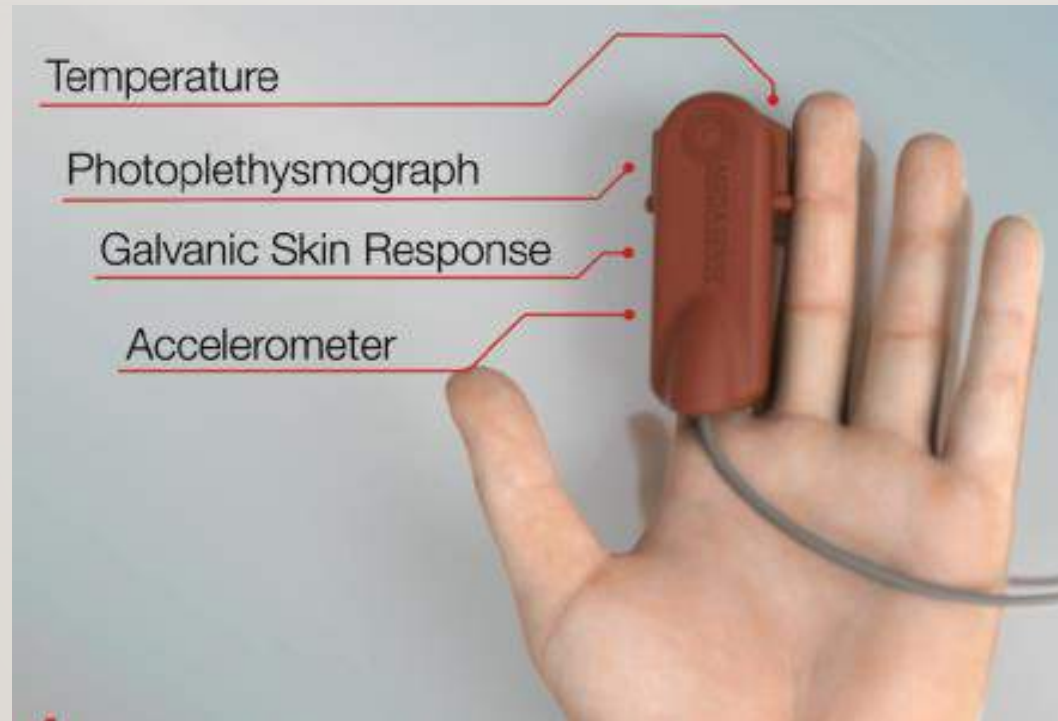
15

NSAID	Half Life (Hours)
Flunixin Meglumine	3-8
Ketoprofen	0.5
Carprofen	37-50
Tolfenamic acid	2.5
Buscopan	Butylscopolamine - 3 hours
	Metamizole - 6 hours
Meloxicam	20 (27 hours when PO)

16 PAIN ASSESSMENT



17 PAIN ASSESSMENT



18 ASSESSMENT OF MASTITIS IN MILK

- Somatic cell count
- Decrease In milk production
- Increase in conductivity
- Decrease in lactose
- Other parameters

19 PAIN PROTEIN IN THE MILK

- Acute Phase Proteins - serve different physiological functions for the immune system.
- Some act to destroy or inhibit growth of microbes, e.g., CAA and Hp.

20 ACUTE PHASE PROTEIN

- Give negative feedback on the inflammatory response, e.g., serpins, alpha 2 macroglobulin and coagulation factors affect coagulation.
- Positive APPs are associated with anorexia and changed metabolism.

21 ACUTE PHASE PROTEIN

- **Haptoglobin (Hp)** is a protein in the blood plasma that binds free hemoglobin released from erythrocytes with affinity and thereby inhibits its oxidative activity
- In coliforms mastitis

22 ACUTE PHASE PROTEIN

- SAA (serum amyloid A) could distinguish between mild and moderate mastitis.
- Hp and SAA concentrations in milk was observed in udder quarters with chronic subclinical mastitis.

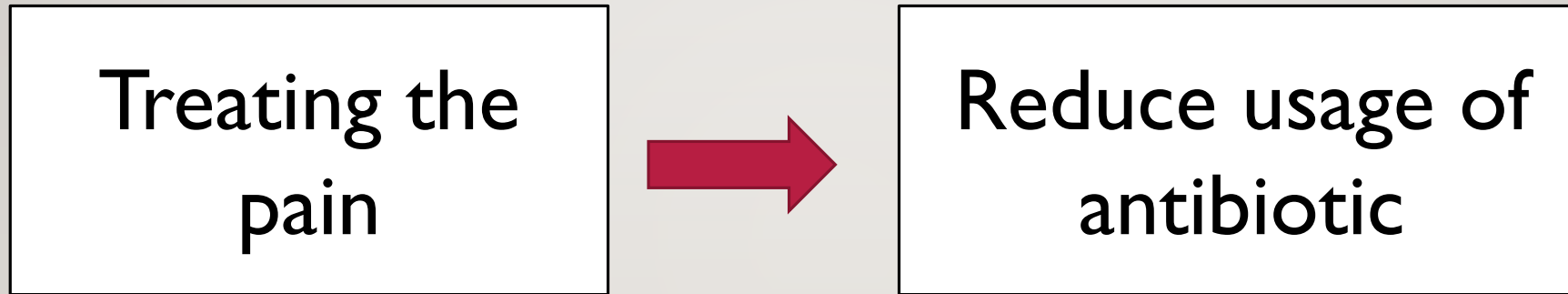
23 WORKING TOGETHER



24 TREATMENT

- Treating animal on collection of data.
- Pain parameter.
- Inflammation parameters.
- Behavioral parameters.
- Clinical parameters.

25 NEXT STEPS



- Self medication???

The background image shows a farm scene. In the upper portion, there are wooden stalls with corrugated metal roofs. Two black and white cows are visible in the stalls. The lower portion of the image shows a wooden plank floor. A white text box is overlaid on the top left, and another white text box is overlaid on the bottom right. A thin red horizontal line is positioned across the middle of the image.

**THANK YOU FOR
YOUR ATTENTION**

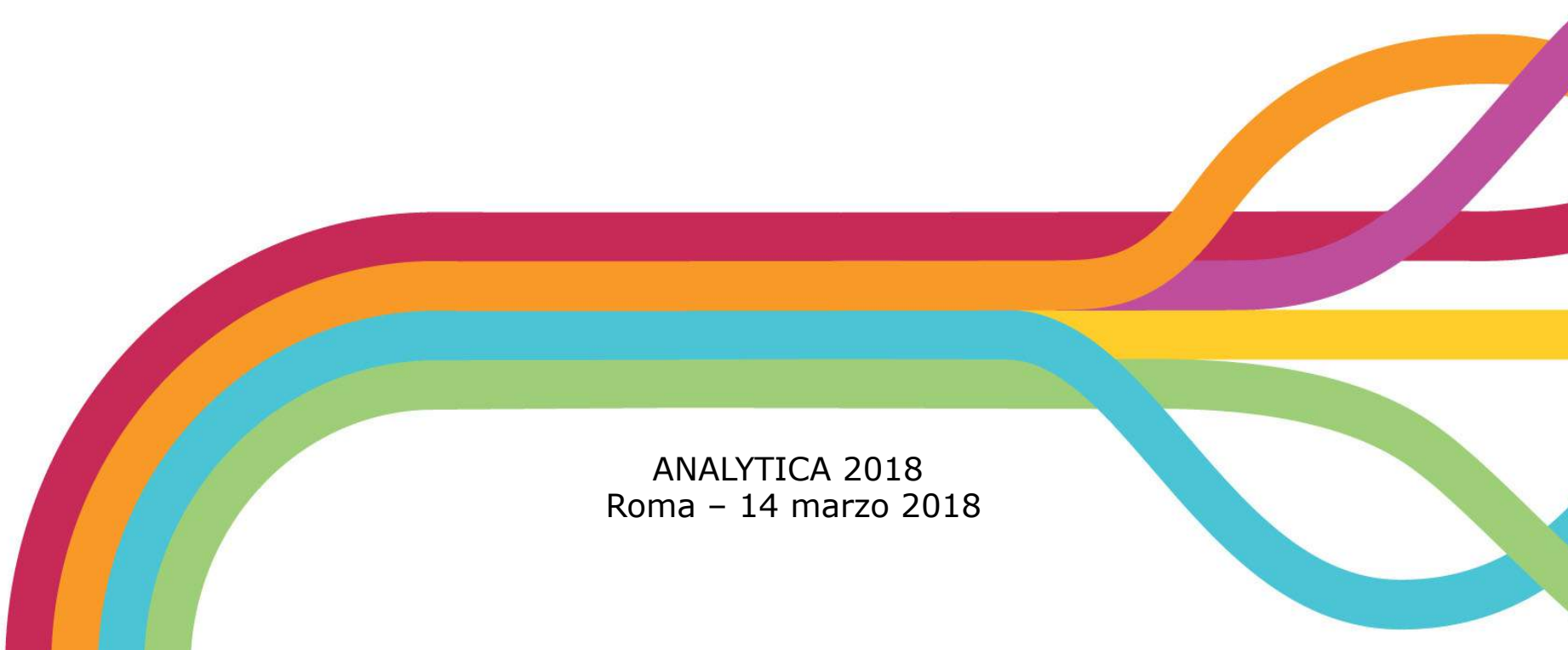
QUESTION?



UNI EN ISO/IEC 17025:2018

Principali innovazioni

ANALYTICA 2018
Roma - 14 marzo 2018



Perché revisionare la norma ?

- ◆ Aggiornare i riferimenti
 - ◆ Riallineare la norma alla ISO 9001 di nuova revisione
 - ◆ Aggiornare il linguaggio di alcuni requisiti rispetto allo stato dell'arte
 - ◆ Inserire per alcuni requisiti il linguaggio "obbligatorio" e mutuare una "struttura simile" per le norme della serie 17000
-

Introduzione

- ✓ **1 Scopo e campo di applicazione**
- ✓ **2 Riferimenti normativi**
- ✓ **3 Termini e definizioni**
- ✓ **4 Requisiti generali**
- ✓ **5 Requisiti strutturali**
- ✓ **6 Requisiti relativi alle risorse**
- ✓ **7 Requisiti di processo**
- ✓ **8 Requisiti del sistema di gestione**

Appendice A (informativa): Riferibilità metrologica

Appendice B (informativa): Opzioni per il Sistema di Gestione

Nell'introduzione per la prima volta compare una assunzione di carattere generale su **risks and opportunities**.

Non necessariamente debbono essere applicati metodi formali per la "gestione del rischio", ma l'organizzazione in base alla sua complessità deve decidere il tipo di approccio.

Questo concetto viene chiarito anche con una nota al
8.5 risks and opportunities.

Nell'introduzione viene fornito un chiarimento sul significato che assume nello standard dei seguenti termini :

- "shall": indica un requisito;
- "should": indica una raccomandazione;
- "may": indica un permesso;
- "can": indica una possibilità.

Definizione di laboratorio:

Organismo che svolge una o più delle seguenti attività:
Prove, Tarature, e Campionamento,
associato a successive prove o tarature

Definizione di decision rule:

Una regola che descrive come l'incertezza di misurazione
sarà tenuta in conto per dichiarare la conformità con un
requisito specificato

- Il concetto di imparzialità è già presente nella norma attuale sebbene non sia un requisito a se stante
- L'imparzialità è l'unico requisito che espressamente richiede una analisi dei rischi "on going basis"

In applicazione al linguaggio obbligatorio nei "general requirements" compare come requisito a se stante anche la riservatezza "confidentiality"

Il requisito ingloba di fatto anche quanto espresso nel requisito 4.1.5 C della norma vigente

- Non compare più termine "alta Direzione"
 - Non viene più citato un referente della Qualità: La qualità è un lavoro di squadra
 - Non viene più prescritto di individuare dei "sostituti"
-

NON viene adottato il termine **informazioni documentate** utilizzato nella ISO 9001 ma per continuità al linguaggio in uso nella versione 2005 della norma è rimasto il termine **procedure**.

In analogia a quanto scritto nella ISO 9001 per le informazioni documentate, come cappello generale nel 5.5.1 viene specificato che :

il CAB deve documentare le sue procedure
nella misura necessaria per garantire

la coerente applicazione delle sue attività e la validità dei risultati.

Sebbene la struttura si presenti diversa rispetto alla versione 2005 della norma, è stata preservata l'integrità dei requisiti tecnici della norma

Il processo principale (capitolo 7) è quello che parte dal riesame del contratto e porta all'emissione del RdP inglobando tutti i requisiti legati alle "laboratories activities".

Pertanto nel capitolo 7 ci sono anche quei requisiti attualmente presenti nel capitolo 4 della norma (es. Technical records e Management of non conformity work)

6 Requisiti relativi alle risorse

6.1 Generalità

6.2 Personale

6.3 Strutture e condizioni ambientali

6.4 DOTAZIONI (*Equipment*)

6.5 Riferibilità metrologica

6.6 Prodotti e servizi forniti dall'esterno

**Risorse è tutto ciò che è necessario per effettuare il
Processo**

I requisiti dell'attuale norma sono sostanzialmente mantenuti.
Maggiormente enfatizzato il concetto di "competenza" :

Il laboratorio deve documentare i requisiti di competenza per ciascuna funzione che influenza i risultati delle attività di laboratorio

Non più presente il requisito di verifica di efficacia di formazione mentre viene indicato tra le registrazioni del personale da mantenere:

Registrazioni per il monitoraggio della competenza del personale

Competenza in molti standard (es ISO 19011) viene definita come **la capacità di applicare** conoscenza e abilità per ottenere i risultati desiderati

Equipment assume un significato molto ampio,

infatti include

NON solo Strumenti di misura

ma anche i software, gli standard, i materiali di riferimento, i reagenti e materiali di consumo o apparecchi ausiliari necessari per la corretta esecuzione delle attività di laboratorio e che possono influenzare il risultato.

Il linguaggio viene mutuato dalla ISO 9001 fornendo requisiti di carattere generale per l'acquisto sia dei prodotti che dei servizi :
inglobando quindi nell'acquisto di servizi di prova
il vecchio concetto di subappalto

Sono stati inseriti solo gli elementi essenziali, rimandando per approfondimenti sulle modalità per ottenere la riferibilità metrologica all'**Annex A**.

L'annex è informativo e fornisce approfondimenti circa la riferibilità metrologica. In particolare viene indicato come uno degli elementi per la riferibilità metrologica la competenza tecnica del laboratorio

le tarature effettuate da un laboratorio che opera in conformità alla norma sono in grado di fornire la riferibilità metrologica.

L'Annex, riprendendo i concetti di ILAC P10, indica come modalità per dimostrare la competenza, accettate a livello internazionale, le seguenti:

- Istituti Metrologici Nazionali e Istituti Designati (NMI) i cui servizi sono idonei e coperti dall'accordo CIPMMRA. Le capacità metrologiche (CMC) internazionalmente accettate sono pubblicate nel KCDB dal BIPM
 - Laboratori di taratura accreditati i cui servizi sono idonei e il cui accreditamento è rilasciato da Organismi di accreditamento (ABs) firmatari dell' accordo EA-MLA o ILAC-MRA. Lo scopo di "taratura" (calibration) è pubblicato dagli Abs.
-

7 Requisiti di processo

- 7.1 Riesame delle richieste, delle offerte e dei contratti**
 - 7.2 Selezione, verifica e validazione dei metodi**
 - 7.3 Campionamento**
 - 7.4 Manipolazione degli oggetti da sottoporre a prova**
 - 7.5 Registrazioni tecniche**
 - 7.6 Valutazione dell'incertezza di misura**
 - 7.7 Assicurazione della validità dei risultati**
 - 7.8 Presentazione dei risultati**
 - 7.9 Reclami**
 - 7.10 Attività non conformi**
 - 7.11 Controllo dei dati e gestione delle informazioni**
-

Vengono presi in carico oltre agli attuali requisiti del 4.4 anche i requisiti 4.5.2 e 4.5.3 (activities performed by external providers). Inoltre nell'ottica della massima trasparenza verso il cliente:

Il decision rule diviene oggetto del riesame del contratto in caso di dichiarazioni di conformità

Pertanto in fase contrattuale, qualora il cliente richieda una dichiarazione di conformità ad una specifica, il decision rule deve essere chiaramente definito, comunicato e concordato con il cliente

Maggiormente enfatizzato il concetto che:

il laboratorio deve verificare le proprie performances siano compatibili con quelle indicate nella metodica.

Inoltre se la metodica viene revisionata dall'ente normatore tale verifica deve essere ripetuta per quanto necessario.

ed anche:

La verifica delle performances deve tener conto delle necessità del cliente e delle specifiche cogenti e di settore

Vengono presi in carico i requisiti dell'attuale 5.8.

Nell'ottica di una maggiore trasparenza nei confronti dell'utilizzatore finale del RdP viene prescritto, quando il cliente chiede una deviazione dalla specifica di prova o taratura, di riportare tale informazione sul report, chiarendo inoltre (questa è la novità) quali sono *i risultati che potrebbe esserne inficiati*.

“... una dichiarazione nel RdP che indichi quali risultati possono essere influenzati dalla deviazione”.

Process Requirement :
Evaluation of measurement uncertainty

Non più utilizzato il termine stima

Process Requirement:
Assuring the validity of results

Non più utilizzato il termine qualità

- ✧ Non si fa più riferimento all'indirizzo del cliente ma genericamente al nome e contatto del cliente (es. mail)
 - ✧ Inserita la data di emissione del RdP
 - ✧ Non più espressamente citata la firma ma: identification of the person authorizing the report
 - ✧ Le attività effettuate in subappalto devono essere identificate come "clear identification when results are from external providers"
 - ✧ Maggiori enfasi viene data sull'indicazioni nel report delle informazioni fornite dal cliente, infatti viene prescritto di identificare chiaramente i dati/informazioni fornite dal cliente.
 - ✧ Inoltre qualora tali informazioni abbiano un'influenza sulla validità del risultato, devono essere indicate sul report
-

Nel paragrafo 7.8.5 viene ribadito che in caso di dichiarazioni di conformità a requisiti e/o specifiche, il laboratorio deve aver documentato il decision rule applicato, incluso il livello rischio stimato

Nel rapporto di prova deve essere chiaro a quali risultati si riferisce la dichiarazione di conformità ed il decision rule applicato.

Inoltre deve essere chiarito a quali specifiche, o parti di esse, i risultati sono conformi.

Complaints

I requisiti per i "reclami" contengono il linguaggio obbligatorio.

La Novità è rappresentata dal fatto che il riesame e l'approvazione degli esiti del reclamo, a garanzia dell'imparzialità, devono essere eseguiti da personale non coinvolto nella gestione del reclamo stesso

Nonconforming work

Vengono sostanzialmente presi in carico i requisiti dell'attuale punto 4.9

Control of data – Information management

Vengono presi in carico i requisiti dell'attuale punto 5.4.7 ma con un linguaggio più attuale e contemporaneo

- ✓ Vengono prese in considerazione ai fini della validazione anche **"le interfacce"**
 - ✓ vengono presi in considerazione anche sistemi di conservazione dati remoti come **"il cloud"**
-

8 Requisiti del sistema di gestione

✧ **8.1 Opzioni**

- ✧ 8.1.1 Generalità
- ✧ 8.1.2 Opzione A
- ✧ 8.1.3 Opzione B

✧ **8.2 Documentazione del sistema di gestione (Option A)**

✧ **8.3 Controllo documenti del sistema di gestione (Option A)**

✧ **8.4 Controllo delle registrazioni (Option A)**

✧ **8.5 Azioni per affrontare i rischi e le opportunità (Option A)**

✧ **8.6 Miglioramento (Option A)**

✧ **8.7 Azioni correttive (Option A)**

✧ **8.8 Audit interni (Option A)**

✧ **8.9 Riesami di direzione (Option A)**

Option A

Riallineati alla ISO 9001 i requisiti di:

- ✓ Controllo dei Documenti e delle RegISTRAZIONI,
- ✓ Miglioramento,
- ✓ Azioni correttive,
- ✓ Audit interni,
- ✓ Riesame della Direzione.

Il linguaggio è quindi maggiormente orientato sulle azioni che il laboratorio deve attuare

Introdotta "Actions to address risks and opportunities"

E' stato inserito un requisito nel capitolo 8 che fosse generale, prendesse in carico il linguaggio delle azioni preventive e soprattutto non rimandasse a nessuna norma specifica per effettuare la valutazione:

8.5 Actions to address risks and opportunities

- ✓ **La gestione dei rischi** può comprendere azioni finalizzate ad identificare i rischi, ad evitare le minacce, ad assumere certi rischi al fine di perseguire delle opportunità, ad eliminare le fonti di rischio, a modificarne la probabilità o le conseguenze, a condividere il rischio o ad mantenere il rischio con una idonea ponderazione
 - ✓ **Le opportunità** possono portare ad ampliare l'ambito delle attività di laboratorio, a presentarsi a nuovi clienti, ad utilizzare nuove tecnologie e altre possibilità per soddisfare le esigenze dei clienti
-

Option B:

Sistema di Gestione conforme alla ISO 9001.

Se il Sistema è in grado di supportare i requisiti dal cap. 4 al cap. 7, allora soddisfa almeno in linea di principio ("**Intent**") i contenuti dei requisiti dal cap. 8.2 al cap. 8.9 (Option A)

Annex B

E' esplicativo del capitolo 8 Management system:

la conformità del sistema di gestione alla ISO 9001 di per sè non dimostra la competenza del laboratorio a produrre risultati affidabili.

Questo è garantito dalla conformità alle clausole da 4 a 7 della ISO IEC 17025

- ❖ Enfasi su “**Impartiality**” vs. “**Independence**”
 - ❖ Orientamento al **processo**
 - ❖ **Enfasi sul risultato di un processo** piuttosto che sulla dettagliata descrizione di compiti e steps da effettuare
 - ❖ **Riduzione** della quantità necessaria di **documentazione**
 - ❖ Introduzione di **rischi ed opportunità**
 - ❖ **I.T.:** rischi, integrità dei dati, riservatezza, validazione del software, considerazione dei documenti elettronici
 - ❖ **Decisions rules** per il pass/fail {dichiarazione di conformità}
-

Grazie per l'attenzione

www.accredia.it



info@accredia.it

Dipartimento Certificazione e Ispezione

Dipartimento Laboratori di prova

Dipartimento Laboratori di taratura



Houston, abbiamo un problema! accuratezza di misura?

Marina Patriarca

Istituto Superiore di Sanità

Dip.to di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità
Pubblica Veterinaria

Vice Presidente Eurachem

Una rete europea di organizzazioni nazionali responsabili per la qualità delle misurazioni, società scientifiche, associazioni di laboratori.

Un luogo condiviso per

- la discussione di problematiche comuni o emergenti
- lo sviluppo di un approccio informato e considerato alle questioni tecniche rilevanti nella definizione di politiche comuni nella UE.

Scopo: promuovere la qualità di tutte le misurazioni analitiche, sostenendone e migliorandone la riferibilità.

Come: attraverso Gruppi di lavoro, Linee guida autorevoli, Workshop e altri eventi formativi, Network nei paesi membri.

Si rivolge a:

- laboratori che eseguono misurazioni analitiche
- enti di accreditamento
- utenti (a qualsiasi titolo) dei dati di laboratorio
- società scientifiche e associazioni di laboratori analitici



- Organizzazioni di 34 paesi
- Per l'Italia:



Requisiti delle misurazioni (analitiche)

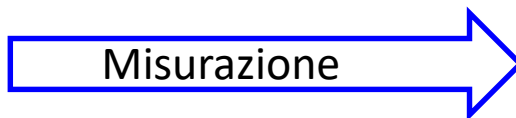
produrre risultati:

- comparabili nel tempo
- comparabili nello spazio
- comparabili con criteri di conformità





Campionamento



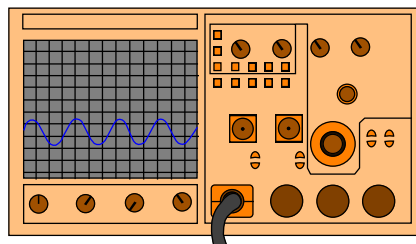
Rapporto di prova



Pre-trattamento

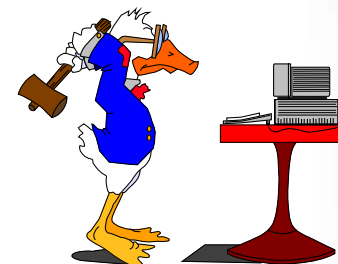
- Omogenizzazione
- Macinazione
- Pesate / Diluizioni
- Estrazione
- Filtrazione
- Mineralizzazione
- Centrifugazione

...



Misura strumentale

- Spettrometria atomica
- Spettrofotometria
- Cromatografia
- Spettrometria di massa
- Tecniche immunoenzimatiche
- Polymerase Chain Reaction
- Accoppiamento di tecniche



Elaborazione dati

- Integrazione del segnale
- Correzione del bianco
- Calcoli
- Espressione del risultato



Validazione

(il metodo è adatto allo scopo)



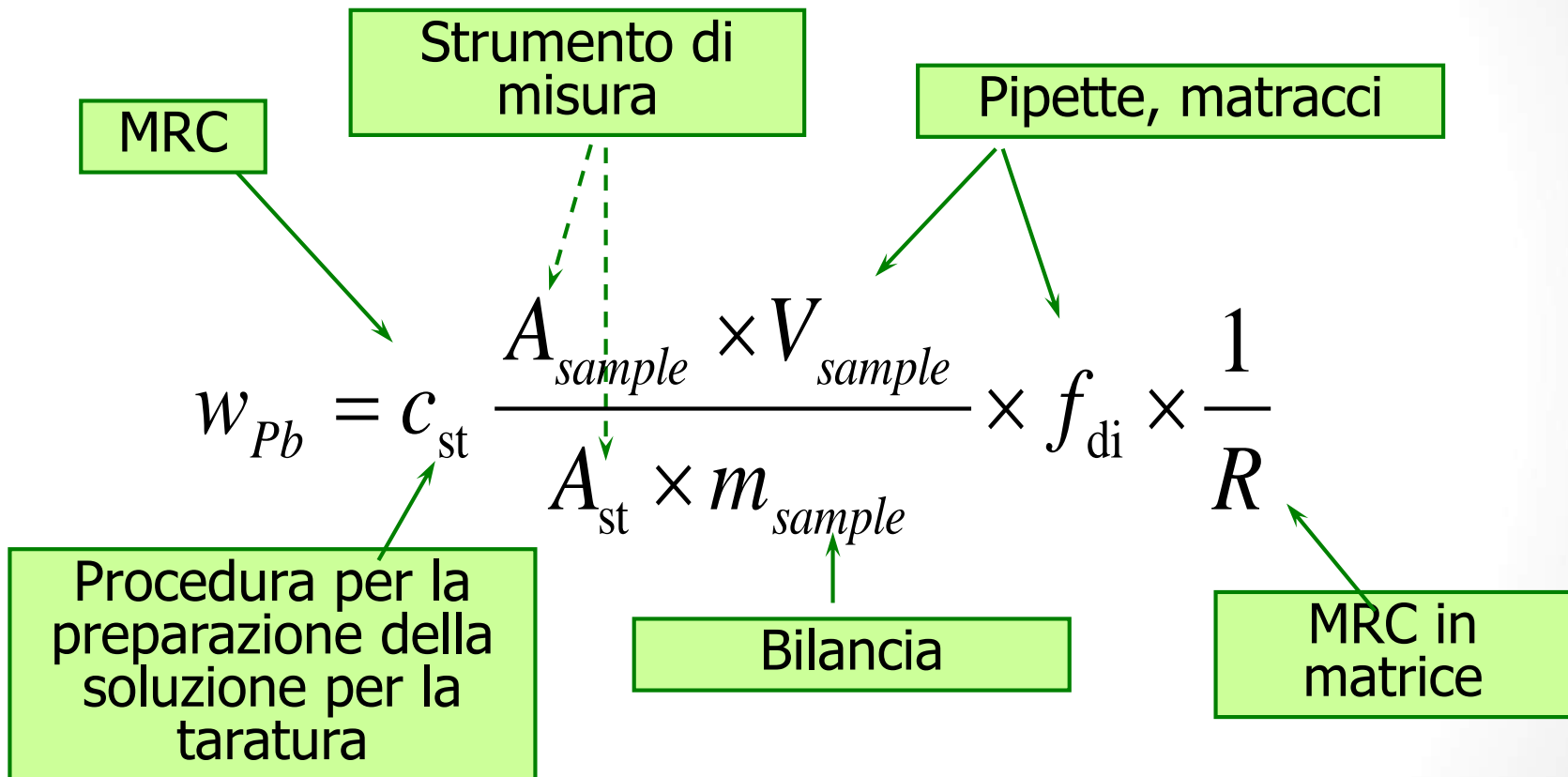
Qualità del
risultato di una
misurazione

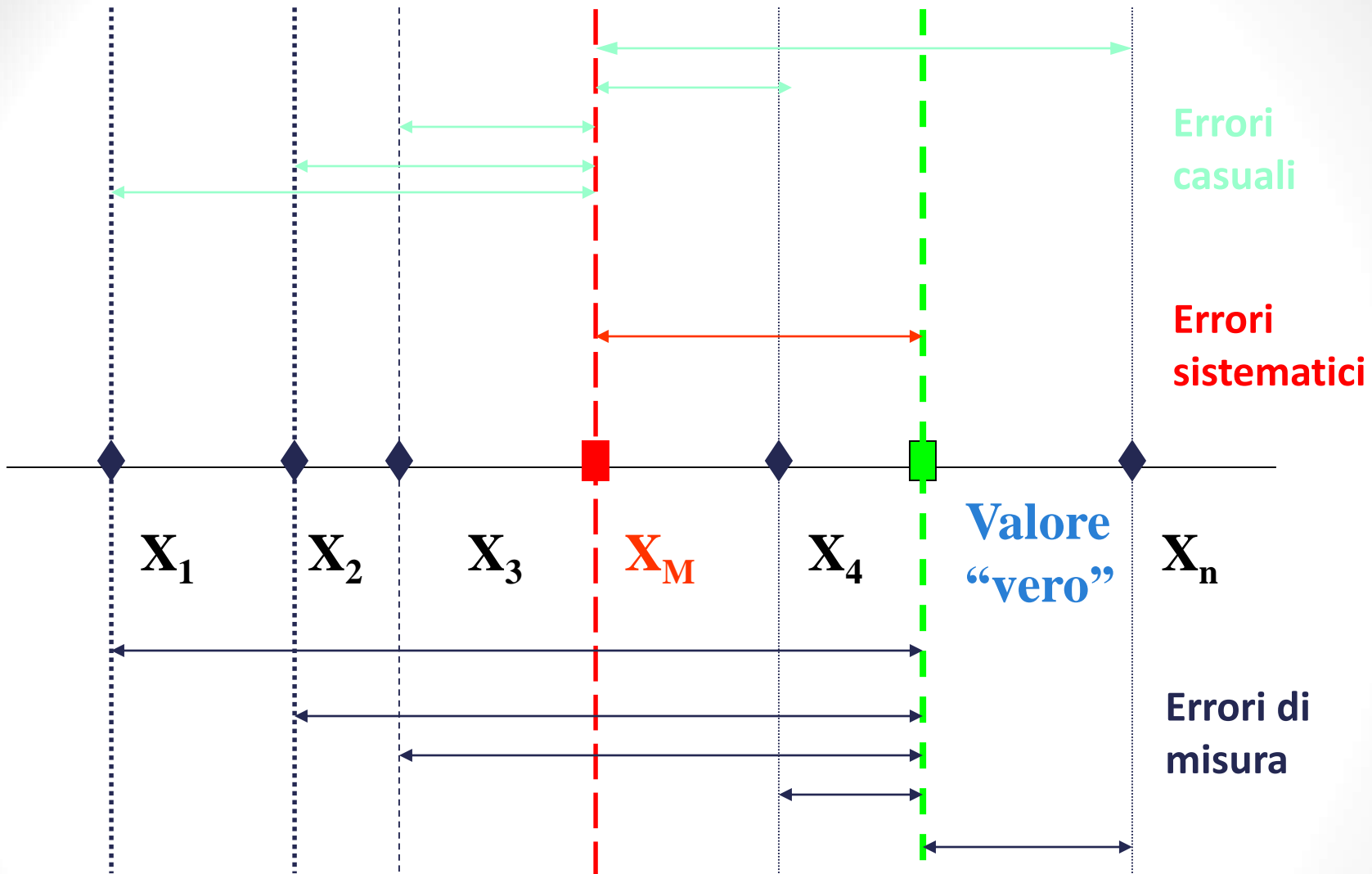
Riferibilità

*(il mio risultato è comparabile
a un riferimento comune)*

Incertezza *(livello di fiducia che ripongo nel risultato)*

Riferibilità delle misurazioni analitiche





X_i = singoli risultati

X_m = media di un grande insieme di risultati

Accuratezza, giustezza e precisione

Accuratezza di misura (VIM 2.13): grado di concordanza tra un valore misurato e un valor vero di un misurando

Giustezza di misura (VIM 2.14): grado di concordanza tra la media di un numero infinito di valori misurati ripetuti e un valore di riferimento

Precisione di misura (VIM 2.15): grado di concordanza tra indicazioni o valori misurati ottenuti da un certo numero di misurazioni ripetute dello stesso oggetto o di oggetti similari, eseguite in condizioni specificate

PRECISIONE

determinata su campioni identici, a vari livelli nell'intervallo di misura

Un laboratorio
Una procedura di misura
Una sessione analitica*



Ripetibilità s_{r-}

Stessi: analisti, strumentazioni, tarature, lotti di reagenti, condizioni ambientali. Periodo di tempo breve.

Un laboratorio
Una procedura di misura
Più sessioni analitiche



Precisione intermedia s_{RW}

Differenti: analisti, strumentazioni, tarature, lotti di reagenti, condizioni ambientali. Periodo di tempo esteso.

Più laboratori

Riproducibilità s_R

Differenti: luoghi geografici e tutte le altre condizioni.

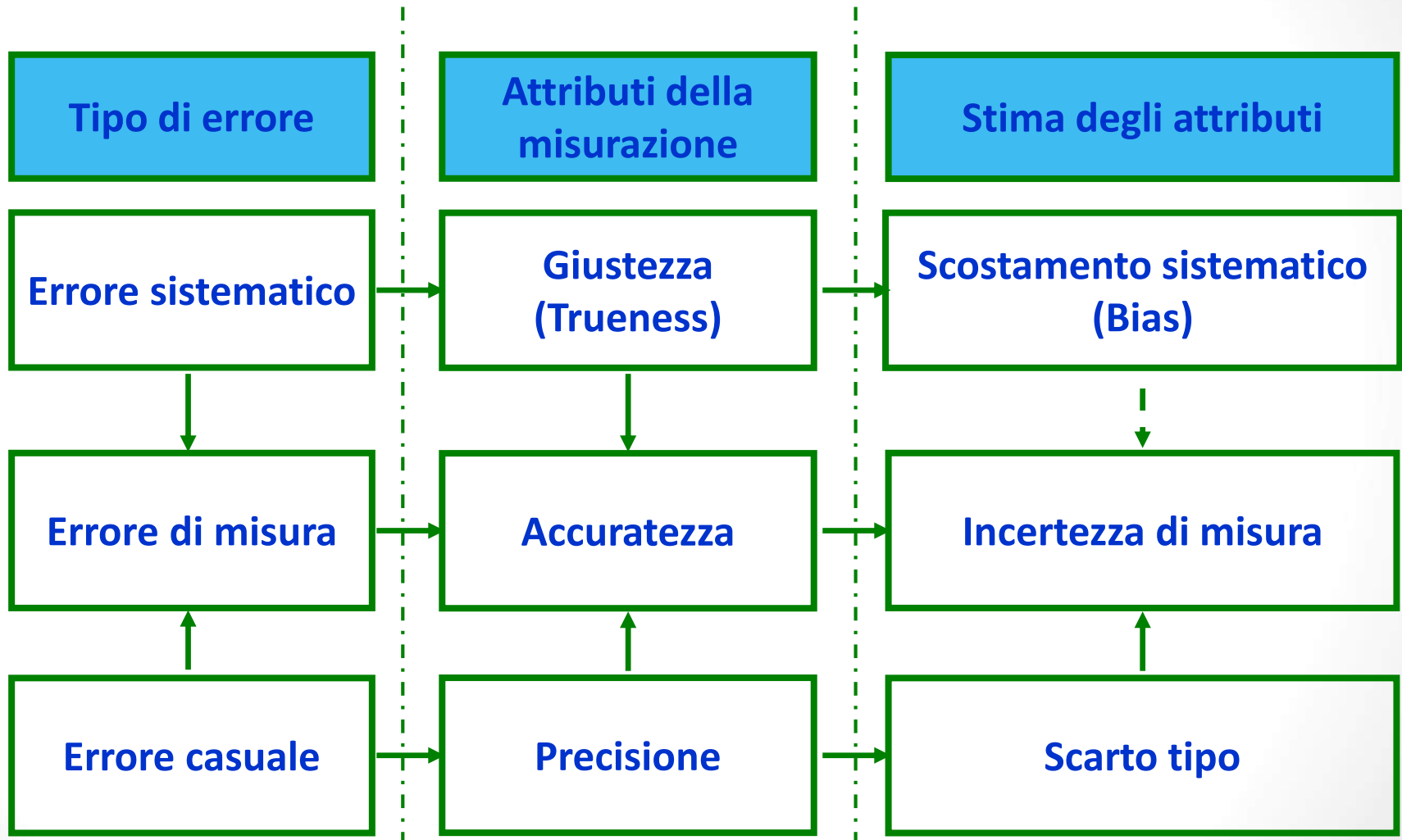
Una procedura di misura?
Una/più sessioni analitiche



Può riferirsi a:

- una procedura di misura specifica (studi collaborativi)
- la misurazione di uno specifico misurando (confronti chiave, PT)

Relazioni tra tipo di errore, attributi della misurazione e loro stima



Terminology in Analytical Measurement

Introduction to VIM 3

**disponibile gratuitamente
sul sito: www.eurachem.org**

First Edition 2011

Rapporti ISTISAN



**Terminologia
per le misurazioni analitiche.
Introduzione al VIM 3**



A cura di:

Maria Belli, Marina Patriarca e Michela Segà

bozza finale

Domande

- Qualsiasi materiale di riferimento (certificato) garantisce
 - la «**qualità**» dei risultati di misurazione?
 - la «**riferibilità**» dei risultati di misurazione?
 - l' «**idoneità per lo scopo**» dei risultati di misurazione?

Responsabilità dell'utente

Valutare:

- quale materiale scegliere
- come utilizzarlo

tenendo conto

- dello scopo delle misurazioni richieste
- delle caratteristiche del materiale di riferimento
- delle istruzioni del produttore

Requisiti indispensabili di MR/C in relazione al loro uso

USO	Omogeneo Prop. definita	Valore assegnato	U nota	Matrice simile
Taratura	●	●	●	
Validazione				
precisione	●			●
esattezza	●	●	●	●
interferenti	●	●		●
CQI	●	●	●	●
PT	●	●	●	●

Scegliere MR/C idonei per lo scopo

L'utente deve individuare le proprietà del MR/C critiche per l'applicazione, ad es.

livello, matrice, stato fisico, quantità minima, quantità disponibile, stabilità, incertezza, commutabilità

Tenendo conto delle informazioni disponibili, ad es.

metodo di certificazione, uso previsto, istruzioni per l'uso

Problemi potenziali:

- Il livello è troppo basso / alto
- la matrice disponibile è idonea?
- quale può essere l'influenza dello stato fisico?
- il livello di incertezza è accettabile?
- Come interpretare le dichiarazioni di commutabilità?



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - BD273

Il valore certificato è riferibile al sistema SI

Il certificato è valido per un anno dallo acquisto
 La quantità minima di campione da utilizzare è 1 g

TOASTED BREAD		
	Mass Fraction	
	Certified value ¹⁾ [ng/g]	Uncertainty ²⁾ [ng/g]
Acrylamide	425	29

1) Unweighted mean value of 11 accepted sets of data obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified value is traceable to the SI.
 2) Expanded uncertainty with a coverage factor of $k = 2$, according to the Guide for the Expression of Uncertainty in Measurements, corresponding to a level of confidence of about 95 %.

This certificate is valid for one year after purchase.
 Sales date:
 The minimum amount of sample to be used is 1 g.

NOTE
 European Reference Material ERM®-BD273 was produced and certified under the responsibility of the IRMM according to the principles laid down in the technical guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-IRMM-LGC. Information on these guidelines is available on the internet (<http://www.erm-crm.org>).

Accepted as an ERM®, Geel, December 2008

Signed:
 Prof. Dr. Hendrik Emons
 Unit for Reference Materials
 EC-JRC-IRMM
 Retieseweg 111
 2440 Geel, Belgium

DESCRIZIONE DEL CAMPIONE

METODI ANALITICI UTILIZZATI PER LA CERTIFICAZIONE

ISTRUZIONI PER L'USO

... da utilizzare per la convalida dei metodi ed il controllo di qualità.

DESCRIPTION OF THE SAMPLE

The matrix material ERM-BD273, consists of 30 g of toasted bread powder of particle size smaller than 500 µm, stored in amber glass bottles under inert atmosphere and kept at a temperature of - 20 °C until delivery.

ANALYTICAL METHODS USED FOR CERTIFICATION

The participant laboratories applied validated methodologies of their own choice which in all cases included a mass spectrometric detection, coupled to different separation techniques, either gas chromatography or high performance liquid chromatography. Chromatographic columns employed differed in their dimensions and stationary phases. Diverse sample extraction strategies and clean up procedures were used and in some cases derivatisation by bromination was applied. Quantification was performed by mass spectrometry in the presence of an isotopically labelled standard, either deuterated acrylamide or ¹³C₃ acrylamide, employing instrumental conditions and focusing on identification and quantification ions which varied from one method to the other.

PARTICIPANTS

- Eurofins, Wiertz-Eggert-Jörissen, Hamburg (DE)
- Lebensmittelversuchsanstalt, Wien (AT)
- VWA Keuringsdienst van Waren, Eindhoven (NL)
- Lebensmittelchemisches Institut, Köln (DE)
- Kantonales Labor, Zürich (CH)
- Dublin Public Analyst Laboratory, Dublin (IE)
- National Food Administration, Uppsala (SE)
- German Research Centre of Food Chemistry, Garching (DE)
- Nestlé Research Center, Lausanne (CH)
- General Chemical State Laboratory, Food and Environment Division, Athens (EL)
- Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt, Stuttgart (DE)
- Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt, Sigmaringen (DE)
- European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, Geel (BE)
- Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Berlin (DE)

The German Research Centre of Food Chemistry contributed to the material characterisation with three different methods, each of them having a different laboratory code assigned.

SAFETY INFORMATION

The usual laboratory safety precautions apply.

INSTRUCTIONS FOR USE

ERM-BD273 is intended for method validation and quality control purposes. The certified value has been assigned to the material as is, no dry mass correction has been applied. Nevertheless the water content of 2.7 ± 0.2 g/100 g has been estimated by Karl Fischer Titration (on 6 units randomly chosen).

STORAGE

Upon receipt, the unopened bottles of the material should be kept at a temperature equal to or lower than - 20 °C for long-term storage. However, the European Commission cannot be held responsible for changes that happen during storage of the material at the customer's premises, especially of opened samples.

LEGAL NOTICE

Neither IRMM, its contractors nor any person acting on their behalf:

- (a) make any warranty or representation, express or implied, that the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document does not infringe any privately owned intellectual property rights; or
- (b) assume any liability with respect to, or for damages resulting from, the use of any information, material, apparatus, method or process disclosed in this document save for loss or damage arising solely and directly from the negligence of IRMM.

NOTE

A detailed technical report is available on www.erm-crm.org. A paper copy can be obtained from IRMM on request.


European Commission – Joint Research Centre
Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)
Retieseweg 111, B - 2440 Geel (Belgium)
Telephone: +32-(0)14-571.722 - Telefax: +32-(0)14-590.40

Residui di farmaci veterinari

PIG LIVER			
	Mass fraction (in reconstituted material)		Number of accepted sets of data p
	Certified value ²⁾ [mg/kg]	Uncertainty ³⁾ [mg/kg]	
Chlortetracycline ¹⁾	0.58	0.11	6

Requisiti sulle prestazioni dei metodi analitici –
Reg. 657/2002/CE

- Riproducibilità non superiore al livello calcolato con l'equazione di Horwitz:

Per 0.58 mg /kg  $S_{RHorwitz}$: 0.10 mg/kg

Valutare il bias dai risultati dell'analisi di MRC

- Il metodo ha un bias?

$$\frac{\text{Valore misurato}}{\text{Valore di riferimento}} = 1 ?$$

- Il bias è statisticamente significativo?

quale criterio?

$$|x_{\text{meas}} - x_{\text{CRM}}| \leq k \sqrt{u_{\text{meas}}^2 + u_{\text{CRM}}^2}$$

- Qual'è l'incertezza della stima del bias?

- Incertezza del valore del MRC
- Incertezza delle misurazioni effettuate

$$\sqrt{u_{\text{CRM}}^2 + \frac{s_r^2}{n}}$$

Guidance on RM/CRM



ISO/REMCO Committee on reference materials

- ISO Guide 30:2015. Reference materials -- Selected terms and definitions
- ISO Guide 31:2015. Reference materials -- Contents of certificates, labels and accompanying documentation
- ISO Guide 32: 1997 (withdrawn 2015)
- ISO Guide 33:2015. Reference materials -- Good practice in using reference materials.
- ISO/IEC 17034:2016. General requirements for the competence of reference material producers
- ISO Guide 35:2017. Reference materials -- General guidance for the assignment of property values-
- ISO/TR 10989:2009. Reference materials -- Guidance on, and keywords used for, RM categorization
- ISO Guide 80:2014. Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs).

Alcune richieste dei laboratori

Come orientarsi tra le varie linee guida

- Dove posso trovare quello che cerco?
- Quali documenti / corsi / esempi?

Linee guida semplici da applicare

- Specifiche piuttosto che generali

Approccio autorevole, accettato dagli Enti di Accreditamento

- Promosso da organismi riconosciuti, indipendenti da interessi commerciali

Costi / lingua

- Possono essere limitanti per la formazione



Eurachem Guides

- Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation (2002)
- Accreditation for Microbiological Laboratories (2013)
- Quality Assurance for R&D and Non-routine Analysis (1998)
- Terminology in Analytical Measurement: Introduction to VIM 3 (2011)
- Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes by Laboratories (2011)
- Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition (2012)
- Measurement uncertainty arising from sampling (2007)
- Use of uncertainty information in compliance assessment (2007)
- Setting target measurement uncertainty (2015)
- The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics (2014)
- Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurements (1998)
- Traceability in Chemical Measurement (2003)
- The Selection and use of Reference Materials (2002)

Revisione della Guida Eurachem

Alla luce delle

- esperienze maturate
- esigenze espresse dai laboratori

Eurachem ha deciso di rivedere la propria linea guida.

Al gruppo di lavoro partecipano:

- EA (EA-LC) – Rappresentata da Giulia Suriani, ACCREDIA
- EUROLAB – Rappresentante in via di definizione
- Esperti nominati dai Paesi membri di Eurachem attraverso i contatti nazionali (vedi www.eurachem.org)

Scopo della revisione

- Soddisfare l'esigenza di una linea guida pratica, nel settore delle misurazioni analitiche, che sia utile ai laboratori, agli ispettori ed altre parte interessate
- Fornire indicazioni per armonizzare l'interpretazione delle regole generali indicate nella ISO Guide 33 nei laboratori analitici ed esempi pratici
- Indirizzare gli utenti interessati alla scelta e all'uso di MR/C alle indicazioni riportate in altre Guide Eurachem.
- Promuovere la conoscenza dei principi descritti nella ISO Guide 33 sia tra gli operatori del settore che in modo più ampio, ad es. nella formazione accademica.



CASE STUDY OF THE USE OF DIFFERENT REFERENCE MATERIAL IN THE DAIRY SECTOR

J STEWART STOCKDALE BSc
NEOMETRIX LIMITED

AGENDA

- INTRODUCTION
- ABOUT THE LABORATORY
- WHY CHANGE SUPPLIER OF REFERENCE MATERIAL
- GENERAL CALIBRATION PROCEDURE
- ABOUT QLIP PRESERVED SAMPLES
- ABOUT QSE SHOCK FROZEN SAMPLES
- PROS AND CONS
- QUESTIONS AND ANSWERS

INTRODUCTION

- A CASE STUDY IN CHANGING REFERENCE MATERIAL (RM) USED FOR CALIBRATION ADJUSTMENT IN A MILK TESTING LABORATORY
- CHANGING FROM:
 - PRESESERVED CALIBRATION SAMPLES
- CHANGING TO:
 - SHOCK FROZEN CALIBRATION SAMPLES

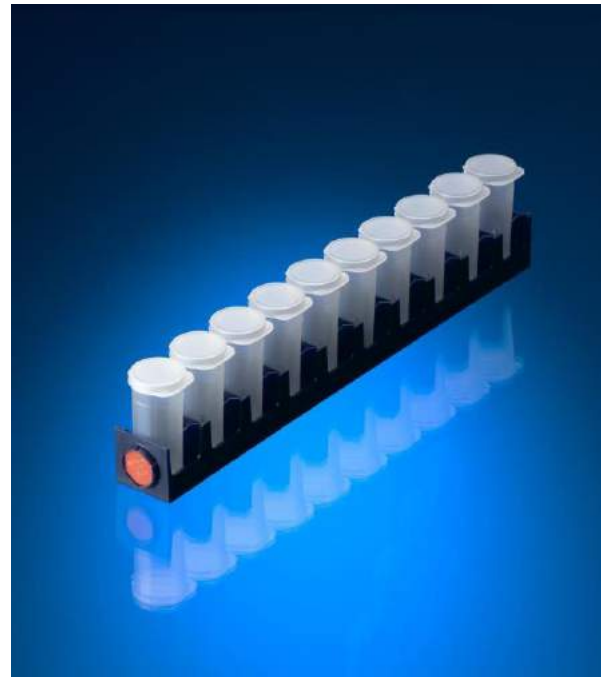
ABOUT LABORATORY

- Herd Recording Laboratory
- Farmer owned Co-operative
- ISO/IEC 17025:2017 UKAS accredited testing laboratory
 - Accreditation No. 7851
- Included in Scope of Accreditation:
 - Analysis of Bovine Milk using CombiFoss FT+ (Fat, Protein, Lactose, Urea, Somatic Cell Count)
- Outside Scope of Accreditation:
 - Fatty Acid profile (Saturated FA, unsaturated FA, MUFA, PUFA C14:0 etc)

ABOUT LABORATORY

- **NEW LABORATORY**
 - Previously the Herd Recording organisation sub-contracted the analysis to an external provider
 - Provider decided to withdraw from milk analysis (not so profitable!)
 - 2009 Neometrix was contracted to find a site and set up a new laboratory
 - 2012 New laboratory opened for business
- **WORKING IN PARTNERSHIP WITH CSP (aka Capitol Vial)**
 - Developed new sample vial with orientation feature
 - Developed new sample racks with orientation features
 - Developed new box to transport samples from farm to laboratory
- **WORKING IN PARTNERSHIP WITH RAUDSZUS ELECTRONIC**
 - Installed Hot air warming baths
 - Installed Sample presentation units with mixer

ABOUT LABORATORY - CSP Partnership



ABOUT LABORATORY – Raudszus Electronic Partnership





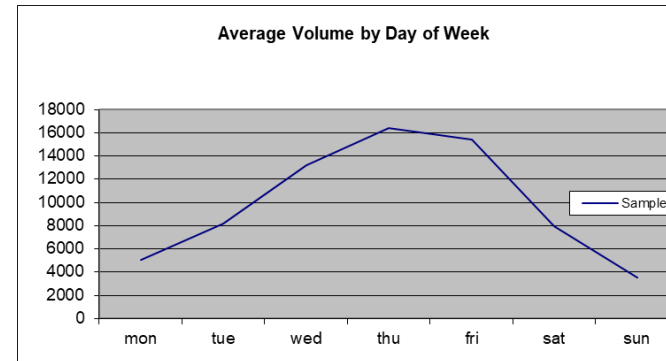
LINK TO VIDEO OF LAB IN OPERATION

ABOUT LABORATORY

- SAMPLE THROUGHPUT:

- 3.5 million samples per year

- Average daily throughput 9,500 samples per day
- Ranging from 4,000 to 16,000 samples per day
- 16,000 samples = 5,300/Combi = 9 hr day
- Monday = optimum day to calibrate
- Tuesday to Thursday = worst days for instrument breakdown
- Not to mention Christmas, Easter and National Holidays
- There is no spare instrument capacity → extended working day and overtime
- Cannot wait for new calibration samples to be shipped



WHY CHANGE REFERENCE MATERIAL (RM)?

- PREVIOUS EXTERNAL LABORATORY HAD USED QLIP RM FOR SEVERAL YEARS
- CURRENT LABORATORY VERY SATISFIED WITH RELIABILITY QLIP RM
 - Reproducible results across 3 CombiFoss FT+ analysers
 - Achieved ISO 17025 using Qlip Reference Material
 - Achieved consistently good Proficiency Test Z Scores
 - ISO 17025 Auditors satisfied with Materials and Protocols
- MANAGEMENT WANTED:
 - Reduce costs
 - Reduce instrument downtime (Increase uptime)
 - Improve efficiency
- TO RETAIN ISO 17025 ACCREDITATION UKAS APPROVAL WOULD BE REQUIRED
 - Lab entered into a 1 year parallel study comparing performance of QSE shock frozen samples v Qlip preserved samples

ABOUT LABORATORY - GENERAL CALIBRATION PROCEDURE

- Prepare calibration samples
 - Calibration set
 - Prediction set (to check calibration after changes have been applied)
- Run calibration samples
- Calculate Calibration adjustments
- Check Reproducibility of Control sample (across 3 CombiFoss)
- Apply Calibration adjustments
- Run Prediction set
- Check accuracy of predictions
- Re-check reproducibility of Control sample

QLIP REFERENCE MATERIAL

- CALIBRATION OF FAT, PROTEIN, LACTOSE, UREA, SOMATIC CELLS REQUIRES SEVERAL DIFFERENT SETS OF CALIBRATION SAMPLES:
 - MCS17
 - F0 - F6 (7 samples for Fat slope/bias, Protein bias & Lactose bias)
 - P1 – P5 (5 samples for Protein slope)
 - L1 - L5 (5 samples for Lactose slope)
 - UREA 6 (6 samples for Urea slope/bias)
 - SCC5 (5 samples for SCC Slope)
 - Control sample (1 sample)



EXAMPLE QLIP CERTIFICATE FOR MCS17

Certificate of Analysis

Code : 16011009
Date : 18-02-2016



Qlip Zutphen
Oostzestraat 2a
P.O. Box 119
7200 AC Zutphen
The Netherlands
+31887547097

Qlip Leusden
Kastanjelaan 7
P.O. Box 292
3830 AG Leusden
The Netherlands

Calibration samples raw milk. (fat,protein,lactose)

Expiry date: 04/04/2016

SAMPLE IDENTIFICATION		RESULTS		
Qlip labnumber	Code	Fat (In % m/m)	Protein (In % m/m)	Lactose (In % m/m)
		Röse-Gottlieb *	Macro-Kjeldahl *	HPLC *
16011009001	F0	0.06	3.65	4.73
16011009002	F1	1.02	3.63	4.67
16011009003	F2	1.99	3.60	4.62
16011009004	F3	3.04	3.56	4.58
16011009005	F4	4.00	3.53	4.53
16011009006	F5	4.97	3.50	4.48
16011009007	F6	5.98	3.46	4.44
16011009010	P1		1.73	
16011009011	P2		2.62	
16011009012	P3		3.42	
16011009013	P4		4.18	
16011009014	P5		5.09	
16011009015	L1			2.82
16011009016	L2			3.58
16011009017	L3			4.29
16011009018	L4			4.99
16011009019	L5			5.71

* The method is accredited by the Dutch Accreditation Council RvA.

Qlip B.V. complies with the criteria for test laboratories as laid down in ISO/IEC 17025:2005

These calibration samples for fat, protein and lactose are suitable for calibration of filter- and FTIR instruments as specified in ISO 9622 / IDF 141:2013.

Uncertainty of measurements:	Fat: ±0,01%/m/m Protein: ±0,02%/m/m Lactose: ±0,02%/m/m	Methods used in analysis:	Fat: based on NEN-EN-ISO 1211 Protein: based on ISO 8968-1 Lactose: based on ISO 22662
------------------------------	---	---------------------------	--

The reported uncertainty is based on a standard uncertainty multiplied by a coverage factor k=2, providing a level of confidence of approx.95%

dr.ir. H. van den Bijgaart
Operations manager laboratoria

TYPICAL CERTIFIED VALUES FOR MCS17

Sample #	Fat (%w/w)	Protein (% w/w)	Lactose (%w/w)
F0	0.07	3.75	4.72
F1	0.99	3.71	4.67
F2	1.97	3.68	4.62
F3	2.98	3.64	4.58
F4	4.01	3.61	4.53
F5	4.97	3.57	4.49
F6	5.90	3.53	4.44
P1		1.72	
P2		2.55	
P3		3.38	
P4		4.19	
P5		5.01	
L1			2.96
L2			3.68
L3			4.39
L4			5.12
L5			5.82

VERY SMALL RANGES
FOR PROTEIN AND
LACTOSE

LINK TO EXCEL RANDOM PROGRAM

DairyQC

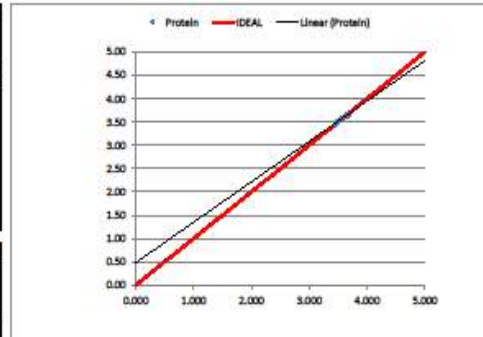
% CV 1.0%
U of M 1 remember its an whole integer for random to work

EXISTING PROTEIN CALIBRATION			
Existing protein slope	0.978		
Existing protein bias	0.016		
sample ID	Pilot	Protein content	Difference
F0	3.53	3.55	-0.020
F1	3.50	3.60	-0.030
F2	3.57	3.57	-0.030
F3	3.54	3.53	0.010
F4	3.50	3.51	-0.040
F5	3.48	3.47	0.000
F6	3.46	3.44	0.010
Pilot	3.54	3.52	0.050
		residual bias	-0.068
		Sd Diff	0.052

NEW PROTEIN - BIAS ONLY	
new protein bias	Calculated 0.0247
new protein prediction	new difference
3.639	-0.011
3.579	-0.021
3.549	-0.021
3.549	0.019
3.479	-0.031
3.479	0.009
3.459	0.019
3.679	0.059
residual bias	0.068
Sd Diff:	0.050

NEW PROTEIN SLOPE & BIAS CALCULATION	
new protein slope (calc)	0.948
new protein bias (calc)	0.4916
new protein prediction	new difference
3.625	-0.025
3.573	-0.027
3.547	-0.023
3.547	0.017
3.486	-0.024
3.486	0.016
3.469	0.029
3.659	0.039
residual bias	0.068
Sd Diff:	0.028

remember its an whole integer



QLIP PROTEIN AND LACTOSE CALIBRATIONS

- BECAUSE THE F0 – F6 PROTEIN AND LACTOSE RANGES ARE SMALL, PROTEIN AND LACTOSE CALIBRATION IS TREATED DIFFERENTLY.
- BEFORE THE F0 – F6 SAMPLES ARE USED:
 - P1 – P5 SAMPLES ARE USED TO MAKE A PROTEIN SLOPE ADJUSTMENT
 - L1 – L5 SAMPLES ARE USED TO MAKE A LACTOSE SLOPE ADJUSTMENT
- THEN THE F0 – F6 SAMPLES ARE USED TO MAKE PROTEIN AND LACTOSE BIAS ADJUSTMENTS

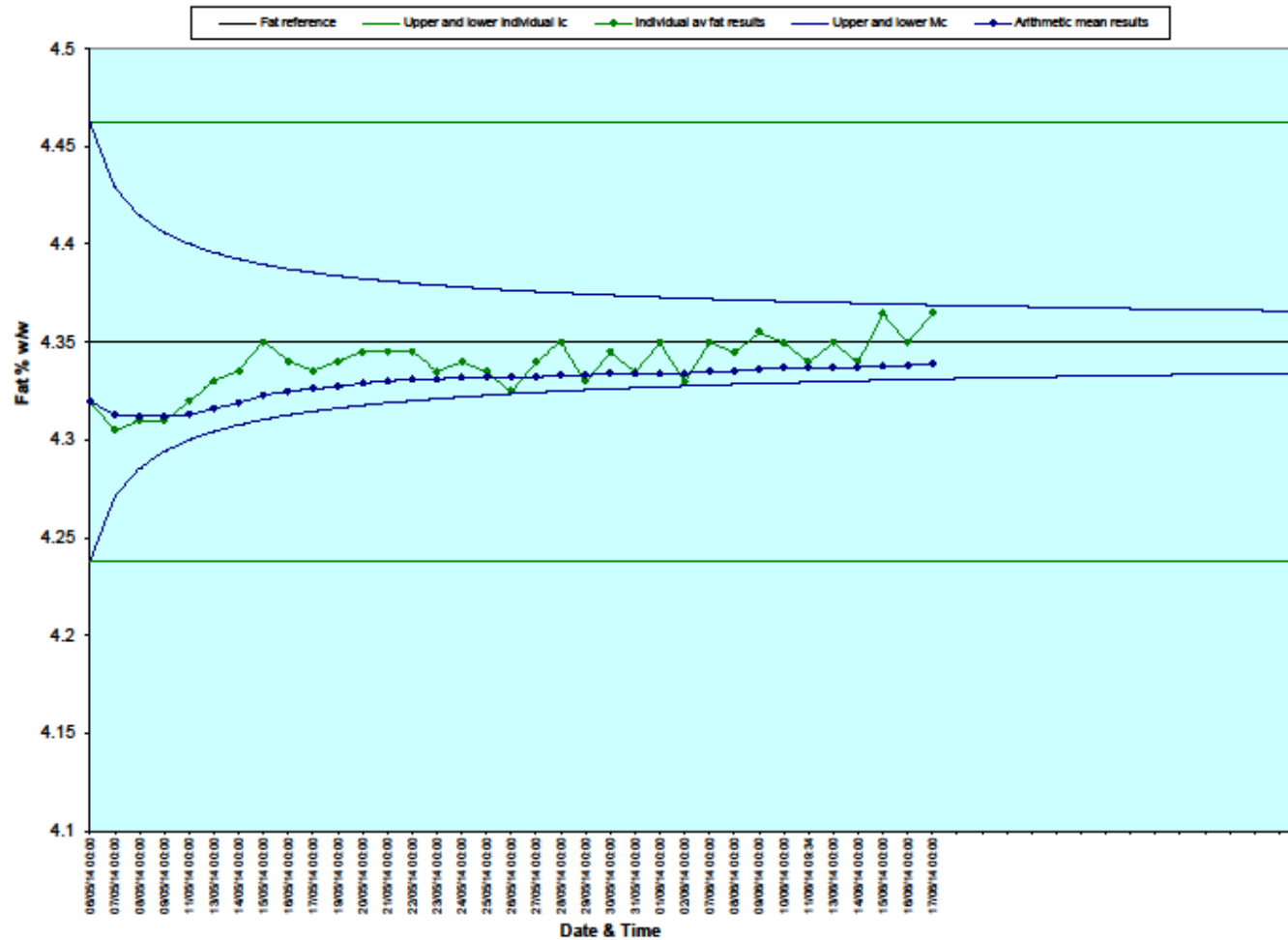
QLIP CONTROL SAMPLES

- QLIP ALSO SUPPLIES SETS OF 34 RAW MILK CONTROL SAMPLES
- THESE ARE USED AT START UP FOR THE DAILY CONTROL OF EACH ANALYSER USING CONTROL CHARTS
- BECAUSE THEY HAVE CERTIFIED REFERENCE VALUES:
 - Control Samples are also included in the Calibration and Prediction sets (1 in each set)
- THE CONTROL SAMPLES ANCHOR DAILY PERFORMANCE OF EACH INSTRUMENT TO THE POINT OF CALIBRATION UNTIL THE NEXT CALIBRATION PERIOD (Currently Monthly)

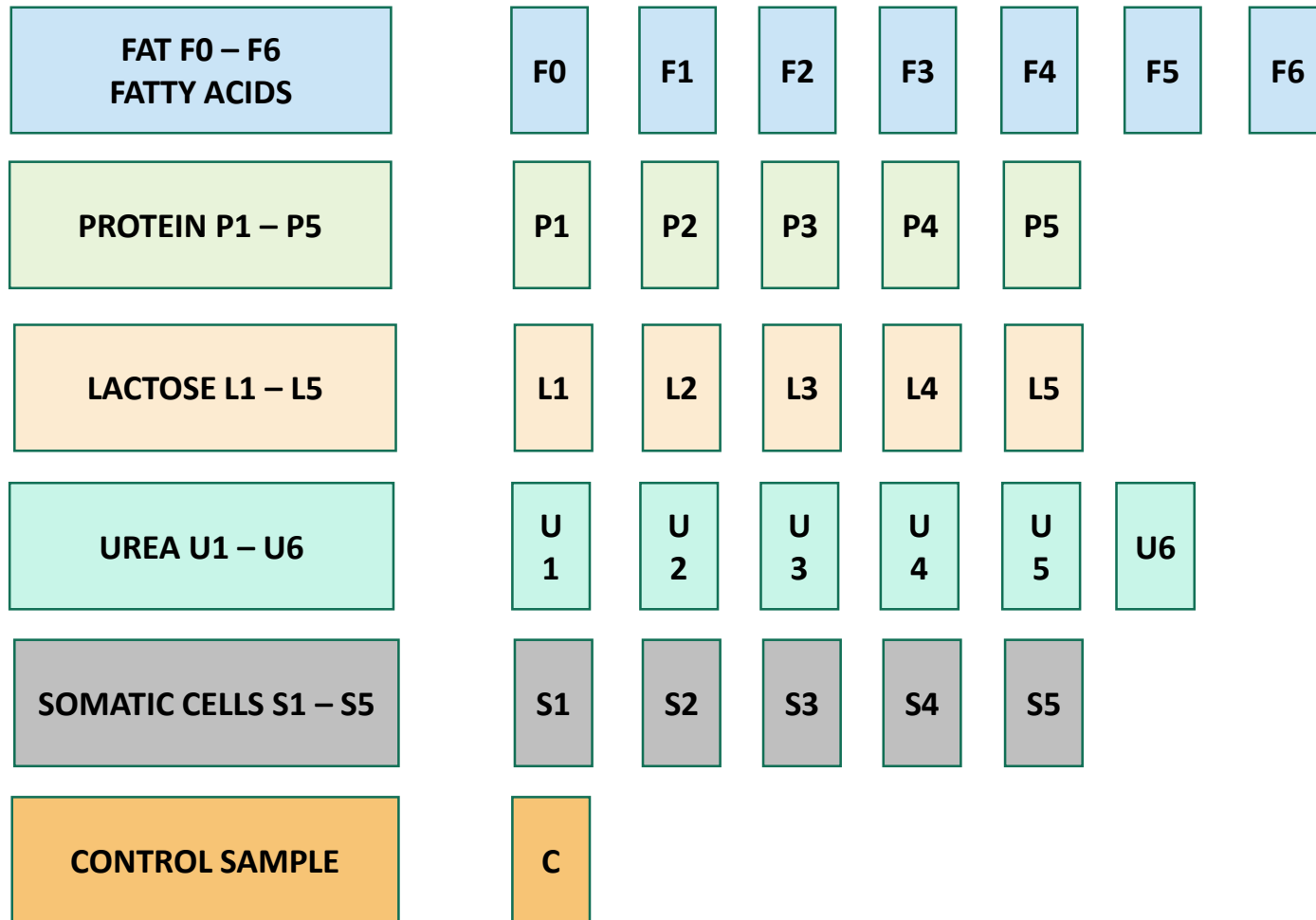
EXAMPLE OF CONTROL CHARTS

DairyQC
www.dairyqc.com

town1 Combi 2 FAT Pilot ID: 13501105

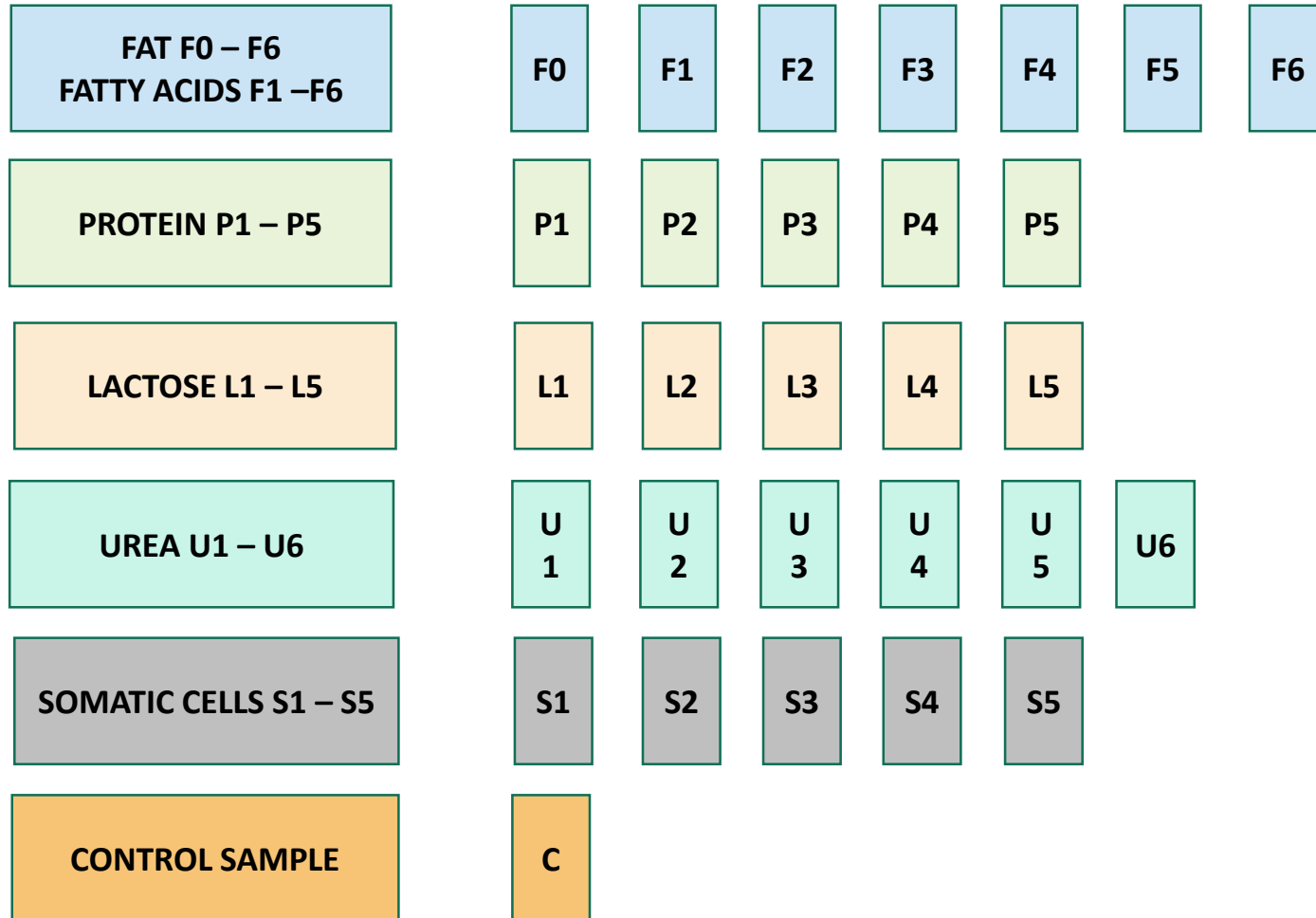


QLIP - NUMBER OF CALIBRATION SAMPLES PER INSTRUMENT



29

QLIP - NUMBER OF PREDICTION SAMPLES PER INSTRUMENT



29

QLIP REFERENCE MATERIAL – FATTY ACID CALIBRATION

- FATTY ACID CALIBRATION REQUIRES ADDITIONAL ANALYSES ON SOME OF THE EXISTING SAMPLES:
 - MCS17
 - F0 - F6 (SFA,UFA,MUFA, PUFA, C14, C16, C18:0, C18:1
 - EVERY 2 MONTHS/6 * PER YEAR
 - Control sample
 - F0 - F6 (SFA,UFA,MUFA, PUFA, C14, C16, C18:0, C18:1
 - EVERY MONTH/12 * PER YEAR
- THE ADDITIONAL ANALYSES ARE REPORTED AS % FATTY ACID
 - MUST BE CONVERTED TO % wt/wt FA per 100g MILK
 - USING THE IDF RECOMMENDED CONVERSION FORMULA

EXAMPLE QLIP FATTY ACID CERTIFICATE OF ANALYSIS

CERTIFICATE OF ANALYSIS
 Report only : 1845599
 Date : 25/11/2015

QLIP
 Quality Laboratory
 11, rue de la
 Chapelle, Fribourg
 Switzerland
 T +41 79 310 11 11
 F +41 79 310 11 12
 www.qlip.ch

Results collection sample name
 Entry code: 8802018

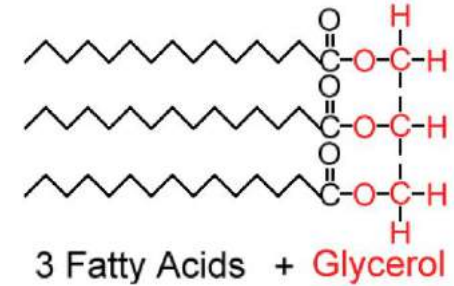
SAMPLE IDENTIFICATION		RESULTS					
QID	Code	Sample 1 (mg/kg)	Sample 2 (mg/kg)	Sample 3 (mg/kg)	Sample 4 (mg/kg)	Sample 5 (mg/kg)	Sample 6 (mg/kg)
Substrate		RESULT	RESULT	RESULT	RESULT	RESULT	RESULT
104199202	11	15.4	21.4	8.41	6.09	1.81	
104199202	12	17.0	23.0	8.44	6.02	1.97	
104199202	13	16.4	20.1	8.41	6.04	1.97	
104199202	14	16.0	20.1	8.41	6.04	1.86	
104199202	15	15.4	20.1	8.41	6.04	1.86	
104199202	16	16.2	20.1	8.41	6.04	1.86	

Christophe
 QUALITY STORAGE MANAGER

Methodology for analysis and control of the results according to the quality standards of the laboratory.
 The results are only valid for the sample and the date of analysis.

IDF CONVERSION FORMULA

- IDF Bulletin 447:2000
- Fat = Glycerol backbone + 3 fatty acids
- On average 95% of Fat is made up of fatty acids
- $\text{Wt/FA/100g milk} = ((\% \text{fat 100g milk} * 0.95) * \% \text{FA}) / 100$



EXAMPLE OF FATTY ACID % wt/wt CONVERSION

DAIRYQC

FATTY ACID PROFILE

QLIP CERTIFICATE:	15461086					
Sample ID	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Total % fat	1.02	2.02	3.06	4.05	4.95	6.06
IDF conversion factor	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Total % fatty acids	0.969	1.919	2.907	3.8475	4.7025	5.757
Fatty acid report code	15461086002 (F1) 15461086003 (F2) 15461086004 (F3) 15461086005 (F4) 15461086006 (F5) 15461086007 (F6)					

% Sat FA	72.410	70.994	70.759	70.592	70.768	70.571	
% w/w Sat FA	0.702	1.362	2.057	2.716	3.328	4.063	*
% Unsat FA	27.590	29.006	29.241	29.408	29.232	29.429	
% w/w Unsat FA	0.267	0.557	0.850	1.131	1.375	1.694	*
% MUFA	23.713	24.967	25.250	25.255	25.157	25.264	
% w/w MUFA	0.230	0.479	0.734	0.972	1.183	1.454	*
% PUFA	2.634	2.855	2.814	2.899	2.833	2.898	
% w/w PUFA	0.012	0.023	0.034	0.048	0.058	0.073	*
% C14:0	12.212	11.825	11.809	11.778	11.798	11.695	
% w/w C14:0	0.118	0.227	0.343	0.453	0.555	0.673	*
% C16:0	33.120	31.714	31.438	31.551	31.661	31.477	
% w/w C16:0	0.321	0.609	0.914	1.214	1.489	1.812	*
% C18:0	9.827	10.067	9.735	9.692	9.454	9.652	
% w/w C18:0	0.095	0.193	0.283	0.373	0.445	0.556	*
% C18:1	20.204	21.433	21.594	21.608	21.444	21.606	
% w/w C18:1	0.196	0.411	0.628	0.831	1.008	1.244	*
% SCFA	9.834	10.019	10.460	10.130	10.352	10.303	
% w/w SCFA	0.095	0.192	0.304	0.390	0.487	0.593	*
% MCFA	52.376	50.529	50.388	50.494	50.774	50.375	

QLIP - NUMBER OF CALIBRATION AND PREDICTION SAMPLES

- NUMBER OF CALIBRATION SAMPLES PER INSTRUMENT 29
- NUMBER OF PREDICTION SAMPLES PER INSTRUMENT 29

TOTAL NUMBER OF SAMPLES PER INSTRUMENT 58

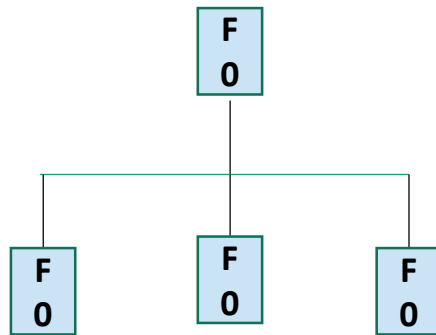
NUMBER OF INSTRUMENTS 3

TOTAL NUMBER OF SAMPLES PER MONTHLY CALIBRATION 174

174 IS A LARGE NUMBER. TO REDUCE COSTS THE QLIP SAMPLES ARE SPLIT INTO 3 SUB-SETS

QLIP SAMPLE PREPARATION

- QLIP REFERENCE MATERIALS ARE SUPPLIED IN 80ml BOTTLES
- CombiFoss requires 5 ml per analysis
- 2 repeat analyses per sample = 10ml + dead volume
- 80 ml is sufficient for 3 analysers
- EACH SAMPLE IS DIVIDED INTO 3 (1 sub-sample for each analyser)



SAMPLE PRESENTATION

- CALIBRATION SAMPLES AND PREDICTION SAMPLES ARE PUT IN RACKS AND SENT THROUGH THE INSTRUMENT IN THE SAME WAY AS THE ROUTINE UNKNOWN SAMPLES
- Add photos of racks loaded with vials

RECAP CALIBRATING USING QLIP SAMPLES

- To calibrate using Qlip samples requires:
 - Additional Fatty Acid analyses and % wt/wt conversion
 - 29 Calibration sub-samples per instrument (87 in total)
 - 15 Calibration calculations per instrument (45 in total)
 - 1 fat calculation (slope/bias)
 - 2 protein calculations (slope then bias)
 - 2 lactose calculations (slope then bias)
 - 1 urea calculation (slope/bias)
 - 1 somatic cell calculation (slope only)
 - 8 fatty acid calculations (slope/bias)
 - 29 Prediction sub samples per instrument (87 in total)

QSE – RAW MILK CALIBRATION SAMPLES

QSE GmbH
Hochstatt 2
65263 Weinzach



Questions concerning our products?

Then contact us:
Tel.: +49 (0) 9526 / 62344 or email: info@qse-gmbh.de

Product Description Certified long term stable standards made of raw milk

Product appellation:

- > F1 (product no.: 6011)
- > F2 (product no.: 6012)
- > F3 (product no.: 6013)
- > F4 (product no.: 6014)
- > F5 (product no.: 6030)
- > F6 (product no.: 6031)
- > F7 (product no.: 6032)
- > F8 (product no.: 6033)
- > E1 (product no.: 6107)
- > E2 (product no.: 6108)
- > E3 (product no.: 6109)
- > E4 (product no.: 6110)



Product description:

- > shock frozen raw milk (cow)
- > no heat treatment
- > no homogenization
- > no preservatives
- > shelf life at least 3 years from date of manufacture
- > storage at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

Parameters:

Parameter (product)	Range	Method
Fat (F1-F8)	ca. 2,2 - 6,0 g/100g	Röse-Gottlieb
Protein (E1-E4, F3)	ca. 3,0 - 4,2 g/100g	Kjeldahl
Lactose (E1, E4, F3)	ca. 4,2 - 5,3 g/100g	Enzymology, HPLC
Dry Matter (E1, E4, F3)	ca. 11,5 - 14,5 g/100g	102 °C
Urea (F1-F4)	ca. 100 - 550 mg/L	Continuous Flow Analysis, Spectrophotometry
Freezing Point (E1-E4, F3)	ca. -0,600 - -0,450 °C	Cryoscopy
pH-value (F3)	ca. 6,68	Electrometry
Casein (E1-E4, F3)	ca. 2,3 - 3,3 g/100g	Kjeldahl
NPN (F3)	ca. 0,2 g/100g	Kjeldahl
Unsaturated Fatty Acids (F3)	ca. 1,3 g/100g	GC
Saturated Fatty Acids (F3)	ca. 2,9 g/100g	GC
Mono Unsaturated Fatty Acids (F3)	ca. 1,1 g/100g	GC
Poly Unsaturated Fatty Acids (F3)	ca. 0,2 g/100g	GC
C14:0 (F3)	ca. 0,5 g/100g	GC
C18:0 (F3)	ca. 1,3 g/100g	GC
C18:0 (F3)	ca. 0,5 g/100g	GC
C18:1 (F3)	ca. 1,0 g/100g	GC

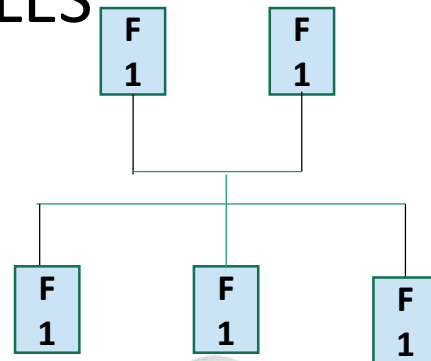
For more detailed information please have a look at our product and price list!

Application:

- > slope and intercept calibration/adjustment of analytical instruments (e. g. infrared instruments)
- > comparison and statistical control in reference analysis (e. g. bench chemistry methods)

QSE SAMPLE PREPARATION

- QSE REFERENCE MATERIALS ARE SUPPLIED IN 40 ml BOTTLES
- CombiFoss requires 5ml per analysis
- 2 analyses per sample = 10ml + dead volume
- 80 ml is sufficient for 3 analysers
- 2 QSE SAMPLES ARE DEFROSTED, COMBINED THEN DIVIDED INTO 3 EQUAL SUB-SAMPLES



QSE SHOCK FROZEN SAMPLES

- QSE VALUES ARE NOT THE RESULTS OF A SINGLE LABORATORY
 - The frozen samples are sent out to several (up to 9) different ISO Accredited Laboratories
 - The reported values are the calculated as the Robust mean values'
- THE SHELF LIFE IS UP TO 3 YEARS IN FREEZER
 - Samples can be kept in freezer ready for immediate use (e.g after repair)
- IT IS POSSIBLE TO ORDER MANY IDENTICAL CALIBRATION SETS AND HUNDREDS OF THE SAME F3 CONTROL SAMPLE.t
 - This allows the possibility of
 - Extending calibration periods
 - Calibrating individual instruments whilst maintaining Reproducibility with other instruments in the same calibration group

QSE SAMPLE MATRICES

- QSE USES A DIFFERENT SAMPLE MATRICES
 - One fat calibration sample F3 is also used as a Control Sample
 - Urea values are reported in the F1, F2, F3 & F4 Fat Calibration samples
 - Lactose values are reported in the E1 and E4 Protein samples
 - F3 also has values for protein, lactose, urea, and Fatty acids + more
- This results in fewer samples but with reasonable ranges in values
 - For Fat, 9 samples in total
 - For Protein 5 samples in total
 - For Lactose 3 samples in total
 - For Urea 4 samples in total
 - For Fatty Acids 4 samples in total

QSE - NUMBER OF CALIBRATION SAMPLES PER INSTRUMENT

FAT F1 – F8 PLUS M1	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	M1
PROTEIN E1 – E4	E1	E2	E3	E4					
LACTOSE INCLUDED WITH F3, E1 & E4									
UREA INCLUDED WITH F1, F2, F3 & F4									
SOMATIC CELLS S1 – S5	S1	S2	S3	S4	S5				
CONTROL SAMPLE INCLUDED AS F3									
FATTY ACIDS FS1 – FS4 & F3	FS1	FS2	FS3	FS4					

22

RECAP CALIBRATING USING QSE SAMPLES

- To calibrate using QSE samples requires:
 - 22 Calibration sub-samples per instrument (66 in total)
 - 13 Calibration calculations per instrument (39 in total)
 - 1 fat calculation (slope/bias)
 - 1 protein calculation (slope/bias)
 - 1 lactose calculation (slope/bias)
 - 1 urea calculation (slope/bias)
 - 1 somatic cell calculation (slope only)
 - 8 fatty acid calculations (slope/bias)
 - 22 Prediction sub samples per instrument (66 in total)

PROS OF QSE SHOCK FROZEN SAMPLES

- Robust Reference values (up to 9 reference labs per Certified value)
- Fewer calibration samples required
- Fewer calculations required
- Simpler calibration procedure
- Less calibration time
- Fatty acid samples with %wt/wt values
- Instant availability after instrument breakdown
- 7% reduction in calibration costs (mainly due to Fatty Acid Calibration)

CONS OF USING SHOCK FROZEN SAMPLES

- QSE reports lactose as lactose monohydrate with conversion factor on the Certificate – only a problem in UK and probably NL– not a problem in the rest of Europe
- To benefit from the potential costs savings it is important to optimise shipping costs. Buy the optimum number of samples at a time (Currently 160 per shipping box)
- Samples must remain frozen. QSE ships ex-works, so the customer is responsible for any losses if the shipment is delayed and the quality of samples is compromised.
- Fit a freezer alarm which sends SMS text messages in case of temperature outside limits or a power failure.

FINALLY

- **CUSTOMER IS SATISFIED**

- 7% Reduction in Calibration and Control costs
- Simpler calibration procedures
- Good Reproducibility between instruments
- Proficiency Test Z Scores are good
- ISO 17025 Auditors are satisfied
- Instant availability of calibration samples after instrument breakdowns has led to greater uptime

- **FUTURE POSSIBILITIES**

- Extend calibration period – e.g. 2 monthly
- Recalibrate individual instruments only when necessary
 - Control chart out of limits
 - After major service of instrument



THANK YOU FOR YOUR ATTENTION

QUESTIONS AND ANSWERS



Diagnosi di mastiti mediante determinazione dell'amiloide-A nel latte



1. Introduzione, chi siamo?
2. Strumentazione Bentley
3. MAA – diagnosi di mastiti
4. Conclusione

1. Introduzione, chi siamo?

Bentley Instruments Inc.

- Società familiare, fondata negli USA nel 1982 da Bent Lyder
- Presente in oltre 50 paesi
- Focalizzata sul settore lattiero-caseario

Bentley Instruments Francia

- Filiale fondata nel 2001
- Sede in Lille, Francia
- Oltre 20 paesi gestiti

Bentley Instruments : soluzioni innovative per l'industria lattiero-casearia

2. Strumentazione Bentley Manuale



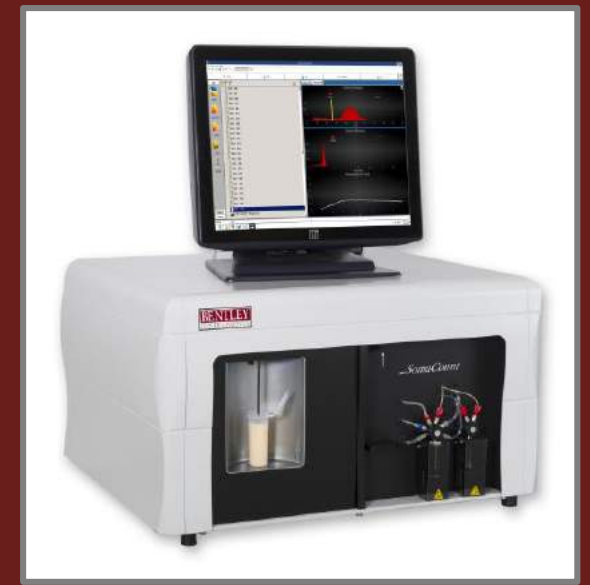
DairySpec FT

- Parametri chimici
- Fino a 60 parametri
- Automatizzabile



BactoCount IBCm

- Carica Batterica Totale
- Conta Cellule Somatiche



SomaCount

- Conta Cellule Somatiche
- Automatizzabile

Bentley Instruments : soluzioni innovative per l'industria lattiero-casearia

2. Strumentazione Bentley Automatizzata



Combi FTS

- Parametri chimici
- Conta Cellule Somatiche
- Fino a 300 campioni/ora



BactoCount IBC

- Carica Batterica Totale
- Conta Cellule Somatiche
- Fino a 150 campioni/ora

Bentley Instruments : soluzioni innovative per l'industria lattiero-casearia

3. Kit MAA – Amiloide-A del latte come biomarker per la diagnosi di mastiti

Perchè ricercare nuovi indicatori?

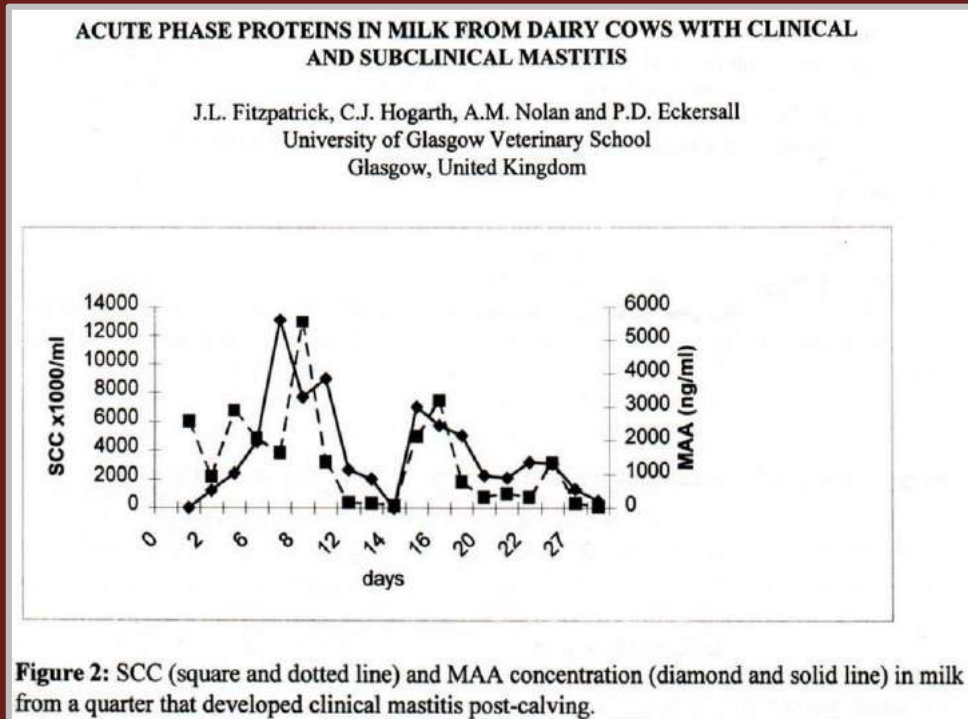
- I valori di SCC restano elevati anche dopo la guarigione
- Altri fattori fisiologici possono influire sul valore di SCC (età, stagioni, stress, ecc...)
- SCC → Possibili falsi positivi, totale assenza di infezione (lattazione precoce o tardiva, animali anziani...)
- SCC → rilevabile anche in mammelle sane
- La conta batterica si dimostra imprecisa in oltre il 20% dei casi (Koivula et al. 2007)



Bentley Instruments : soluzioni innovative per l'industria lattiero-casearia

3. Kit MAA – Amiloide-A del latte come biomarker per la diagnosi di mastiti

I benefici nell'utilizzo del kit MAA



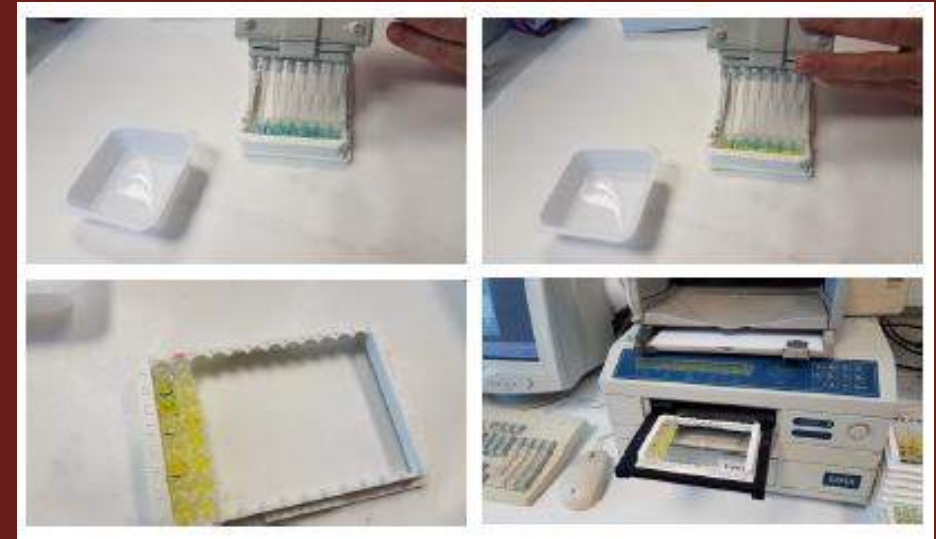
- MAA → prodotta direttamente nella mammella e solo in caso di infezioni → indicatore diretto ed immediato
- Aumento rapido della concentrazione di MAA nelle prime fasi dell'infezione
- Riduzione rapida durante la guarigione
- Precede l'aumento di SCC
- Precisione ed affidabilità anche durante l'asciutta
- Non influenzabile da altri fattori o infiammazioni extramammarie

Bentley Instruments : soluzioni innovative per l'industria lattiero-casearia

3. Kit MAA – Amiloide-A del latte come biomarker per la diagnosi di mastiti

Perchè utilizzare questo kit?

- Per rilevare precocemente le mastiti cliniche e subcliniche
- Per controllare il decorso dell'infiammazione
- Per controllare l'efficacia dei trattamenti
- Per organizzare terapie selettive
- Per valutare la qualità del latte
- Per ridurre l'utilizzo di antibiotici



4. Conclusioni

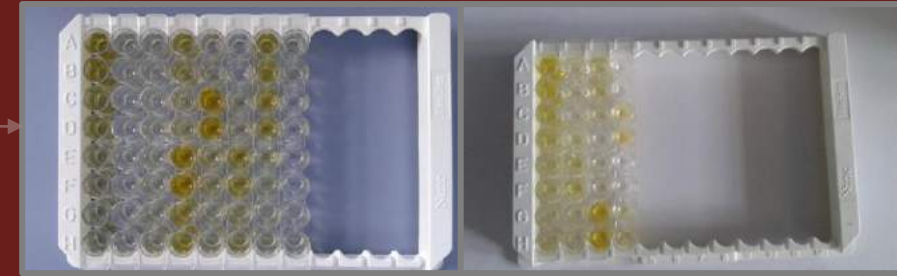
100,000 cells/mL < SCC < 200,000 cells/mL

VACCA ID	SCC	PATOGENO	MAA (ng/mL)	MAA ug/mL
n.	cells/mL			
10	138000	NEG	-232,50	-0,233
11	149000	NEG	-324,17	-0,324
12	114000	NEG	0,83	0,001
13	155000	infected	2300,83	2,301
14	138000	NEG	1067,50	1,068
17	105000	NEG	370,59	0,37

cells/mL > 200,000 cells/mL

VACCA ID	SCC	PATOGENO	MAA (ng/mL)	MAA ug/mL
n.	cells/mL			
1	344000	NEG	-170,00	-0,170
3	5861000	NEG	6613,33	6,613
4	5771000	SERRATIA	2630,00	2,630
5	2086000	SERRATIA	5859,17	5,859
6	1206000	SERRATIA	6255,00	6,255
7	354000	NEG	1613,33	1,613
8	539000	NEG	980,00	0,980
9	435000	NEG	517,50	0,518
15	251000	CNS	3301,96	3,30
16	744000	negativa	498,04	0,50
18	1318000	CNS	10066,67	10,07
20	279000	negativa	4331,37	4,33
22	248000	CNS	1787,25	1,79

Calibration curve, controls and samples (assay 1)



Calibration curve, controls and samples assay 2

Samples with SCC ranging between 100,000 cells/mL < SCC < 200,000 cells/mL the MAA test shows an ongoing infection (confirmed by microbiology)



Grazie per l'attenzione

www.bentleyinstruments.it

mschirano@bentleyinstruments.com

La normazione volontaria a supporto delle aziende, della legislazione e dei consumatori: l'esempio del lattosio

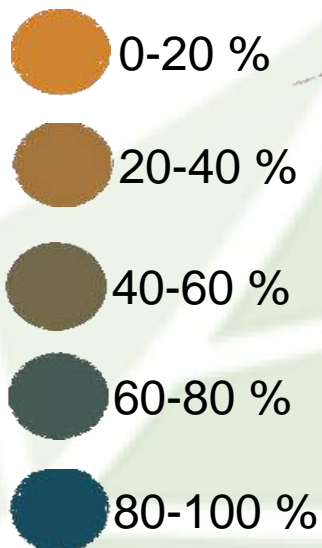
Giovanna Contarini - CREA-ZA Lodi

Fare normazione significa studiare, elaborare, approvare e pubblicare documenti di applicazione volontaria – le cosiddette norme tecniche – che definiscono come fare bene le cose garantendo sicurezza, qualità, rispetto per l'ambiente e prestazioni certe in tutti i settori industriali, commerciali e del terziario.

Questo contribuisce all'efficienza del sistema socio-economico, fornendo gli strumenti di supporto all'innovazione tecnologica, alla competitività, alla protezione dei consumatori, alla tutela dell'ambiente, alla qualità di prodotti, servizi e processi.

www.uni.com www.iso.org

Origine del problema (1) : intolleranza al lattosio




**Sempre maggiore
richiesta di prodotti
delattosati**

Quando un prodotto può essere definito “senza lattosio”?

A livello nazionale, il Ministero della Salute ha consentito la dizione:
“**senza lattosio**” per un contenuto $\leq 0,1$ g/100 g o 100 ml di prodotto
“**ridotto contenuto di lattosio**” per un contenuto $\leq 0,5$ g/100 g o 100 ml di prodotto, nel caso di latti e latti fermentati.



Beta-galattosidasi = lattosio ↓ glucosio ↑ galattosio ↑



“naturalmente privo di lattosio” per un contenuto $\leq 0,1$ g/100 g o 100 ml di prodotto
o “naturalmente a ridotto contenuto di lattosio” per un contenuto $\leq 0,5$ g/100 g o 100 ml di prodotto

Tecnologia (batteri lattici) = lattosio ↓ glucosio ↓ galattosio ↓

Quali sono i metodi per misurare il lattosio? Sono adeguati per tutti i prodotti e per dosare piccole quantità?

ISO 22662:2007: metodo HPLC con IR per la determinazione del contenuto di lattosio del latte crudo, latte trattato termicamente, latte in polvere e panna cruda e pastorizzata, idoneo per un contenuto di lattosio variabile da 1,5 a 50 g/100 g di prodotto.

ISO 26462:2010: metodo enzimatico basato sulla misurazione differenziale del pH, applicabile al latte liquido e ricostituito con contenuto naturale di lattosio

ISO 9622:2013: metodo spettroscopico (MIR), applicabile al latte liquido e ricostituito con contenuto naturale di lattosio

ISO 5765-1:2002 e ISO 5765-2:2002: metodi enzimatici applicabili a latte in polvere, gelati aventi una concentrazione di lattosio da 10 a 50 g/100 g.

ISO 5548:2004 : metodo fotometrico (490 nm) applicabile solo a caseine e caseinati.

Settembre 2016: Richiesta da parte del Consorzio di Tutela del Grana Padano di mettere allo studio un metodo per l'analisi del contenuto in lattosio, glucosio e galattosio di formaggi a pasta dura e lunga maturazione.

Studio del metodo e preparazione del documento

Marzo 2017 Inchiesta preliminare: parere positivo

Novembre 2017: **Publicato**

UNI/TS 11687 - Metodo per l'analisi del contenuto in lattosio, glucosio e galattosio di formaggi a pasta dura e lunga maturazione.

Principio del metodo UNI/TS 11687

10 g di campione + 30 mL di acqua ultrapura

- Riscaldamento a microonde
- Sonicazione
- Omogeneizzazione con Ultraturrax[®]

Filtrazione

Centrifugazione

Deproteinizzazione
sgrassatura

Filtrazione

Purificazione su resina



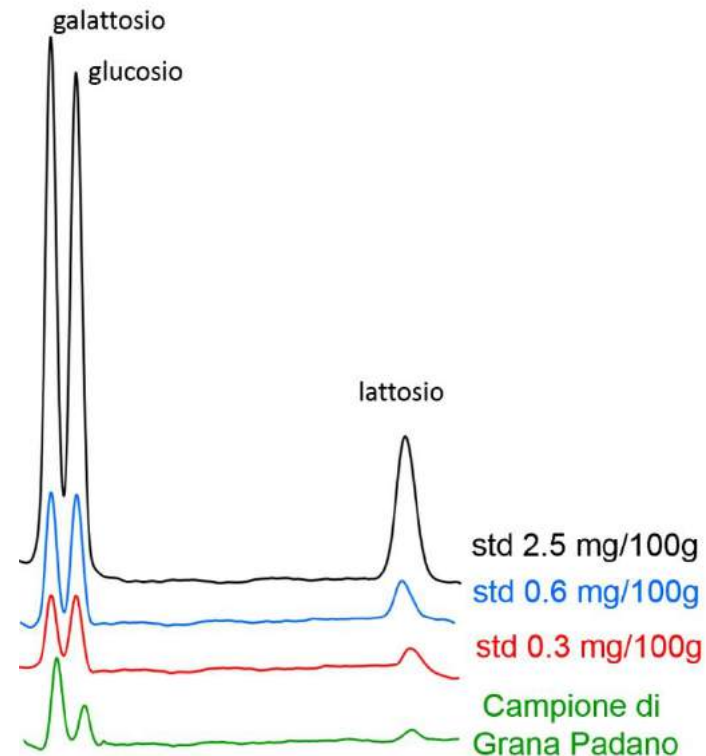
Separazione mediante Cromatografia a scambio anionico (**HPAEC**). Gli zuccheri disciolti in eluenti a $\text{pH} > 12$ si trovano in forma anionica.

Rilevazione mediante Detector amperometrico pulsato (**PAD**). Un potenziale specifico determina l'ossidazione con perdita di un protone e con conseguente flusso di corrente proporzionale alla quantità di analita presente.

	lattosio	galattosio	glucosio
Recupero	93%	98%	98%
Linearità (mg/100g)	0.25-5	0.125-5	0.125-5
LOD (mg/100g)	0.25	0.14	0.16
LOQ (mg/100g)	0.41	0.27	0.26
Limite r (tq)	-	0.12	0.05
Limite di r (+5mg)	0.34	0.31	0.29

Specificità: detector e GC/MS

R ?



TS = specifica tecnica: norma ancora in fase di sviluppo tecnico, pubblicata per l'uso immediato, anche per ottenere un feedback. Entro 3 anni dovrà essere rivista e, se possibile, trasformata in una Norma



Caseificio

Formaggio Pecorino

Laboratorio e Punto Vendita

INGREDIENTI: Latte di pecora, Caglio, Sale. Lavorazione Artigianale.

MODALITÀ E TEMPI DI CONSERVAZIONE:
Sottovuoto - Refrigerati a + 3° + 5° C.
Formaggi Semi-Stagionati 30/60 giorni.

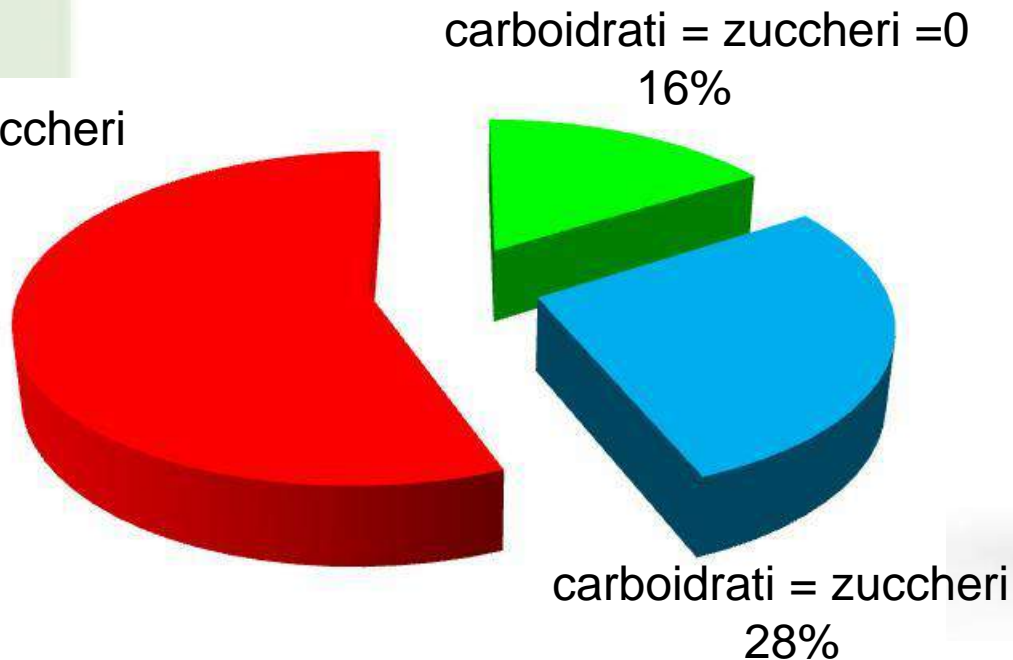
DICHIARAZIONE NUTRIZIONALE		
	Valori medi per 100 g	% AR*
Energia	1705 KJ / 411 Kcal	20%
Grassi	33 g	47%
di cui acidi grassi saturi	22 g	109%
Carboidrati	2,2 g	1%
di cui zuccheri	0,6 g	1%
Proteine	26 g	53%
Sale	2,5 g	41%

*Assunzioni di Riferimento di un adulto medio (8400 KJ / 2000 kcal)

Indagine su 98 etichette nutrizionali di derivati lattiero caseari (formaggi, burro, yogurt)

carboidrati > zuccheri
56 %

da un
minimo di
0.2% ad un
massimo
di 1.9%



Valori notevolmente differenti, sia in termini di carboidrati che di zuccheri sono riportati per le medesime tipologie di formaggio



Allegato 1 del Reg. UE 1169/2011:

- “**carboidrati**”: qualsiasi **carboidrato** **metabolizzato** dall'uomo, compresi i polioli;
- “zuccheri”: tutti i monosaccaridi e i disaccaridi presenti in un alimento, esclusi i polioli;
- “polioli”: gli alcoli comprendenti più di due gruppi idrossili;

FAO / WHO e EFSA

carboidrati: “polidrossi aldeidi, chetoni, alcoli e acidi, così come i loro derivati e polimeri, ad es. amido e altri polisaccaridi”. Tre gruppi principali: “zuccheri (1-2 monomeri), oligosaccaridi (3-9 monomeri) e polisaccaridi (10 o più monomeri)”.

metabolizzato dall'uomo: carboidrati che possono essere digeriti dall'organismo umano = distinzione tra carboidrati e fibra, in relazione soprattutto ai polisaccaridi

Digeribili = amido (amilosio e amilopectina) = CARBOIDRATI
Non digeribili = amido modificato, cellulosa, pectina, GOS = FIBRA

Etichetta nutrizionale

Carboidrati: monosaccaridi, disaccaridi, polisaccaridi digeribili (amilosio e amilopectina), polioli

Zuccheri: monosaccaridi, disaccaridi

FIBRA: amido modificato, cellulosa, pectina, GOS

Applicazione UNI/TS 11687 a prodotti lattiero caseari diversi dai formaggi duri a lunga maturazione

Formaggi duri

10 g di campione + 30 mL di acqua ultrapura

- Riscaldamento a microonde
- Sonicazione
- Omogeneizzazione con Ultraturrax[®]

Filtrazione

Centrifugazione

Deproteinizzazione
sgrassatura

Filtrazione

Purificazione su resina

Formaggi molli, freschi ed erborinati

10 g di campione + 30 mL di acqua ultrapura

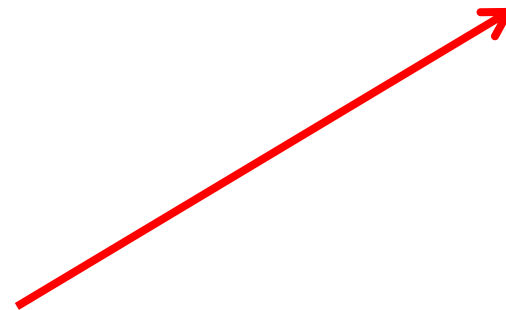
- Riscaldamento a microonde
- Sonicazione
- Omogeneizzazione con Ultraturrax[®]

Deproteinizzazione
sgrassatura

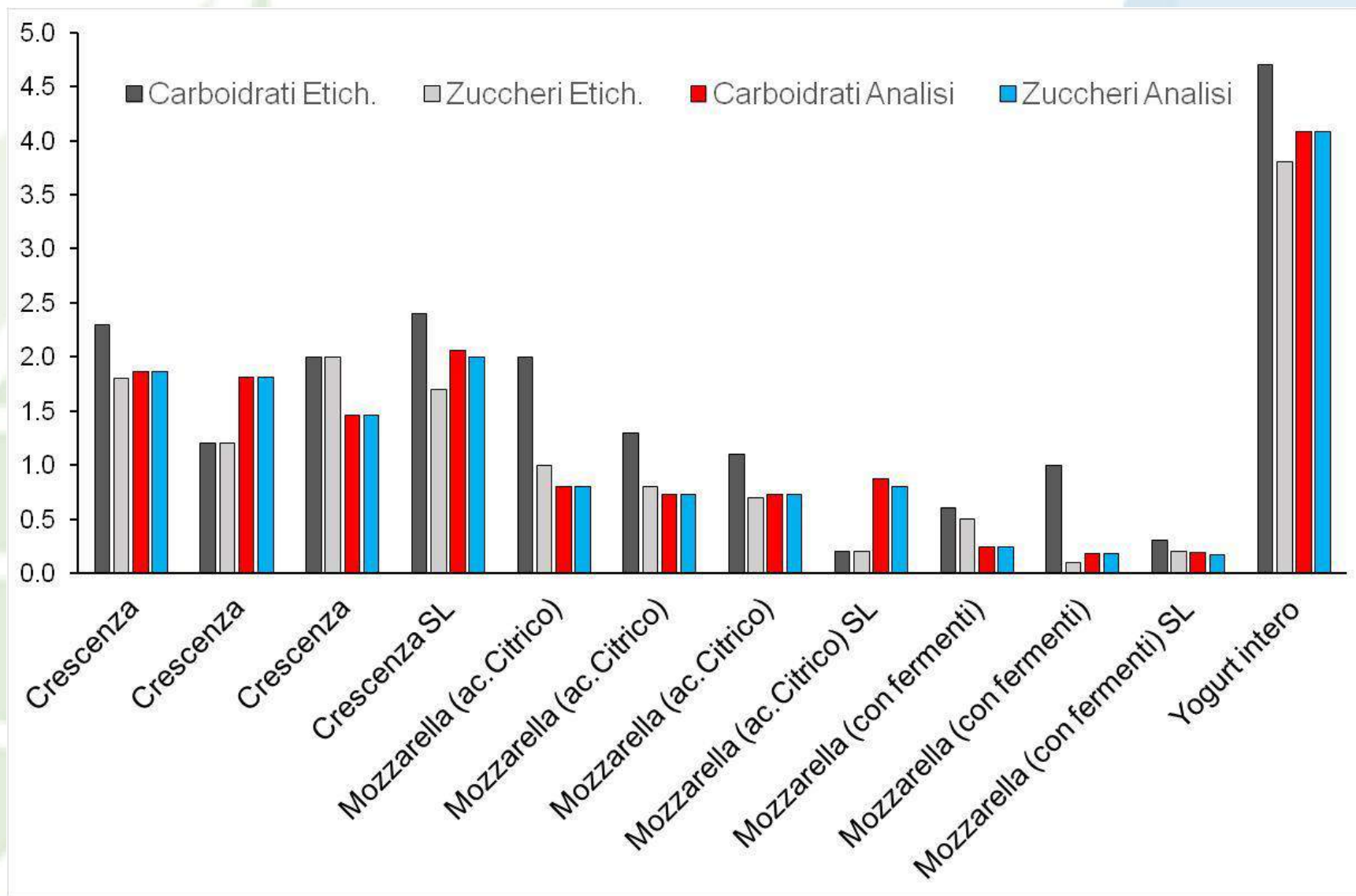
Centrifugazione

Filtrazione

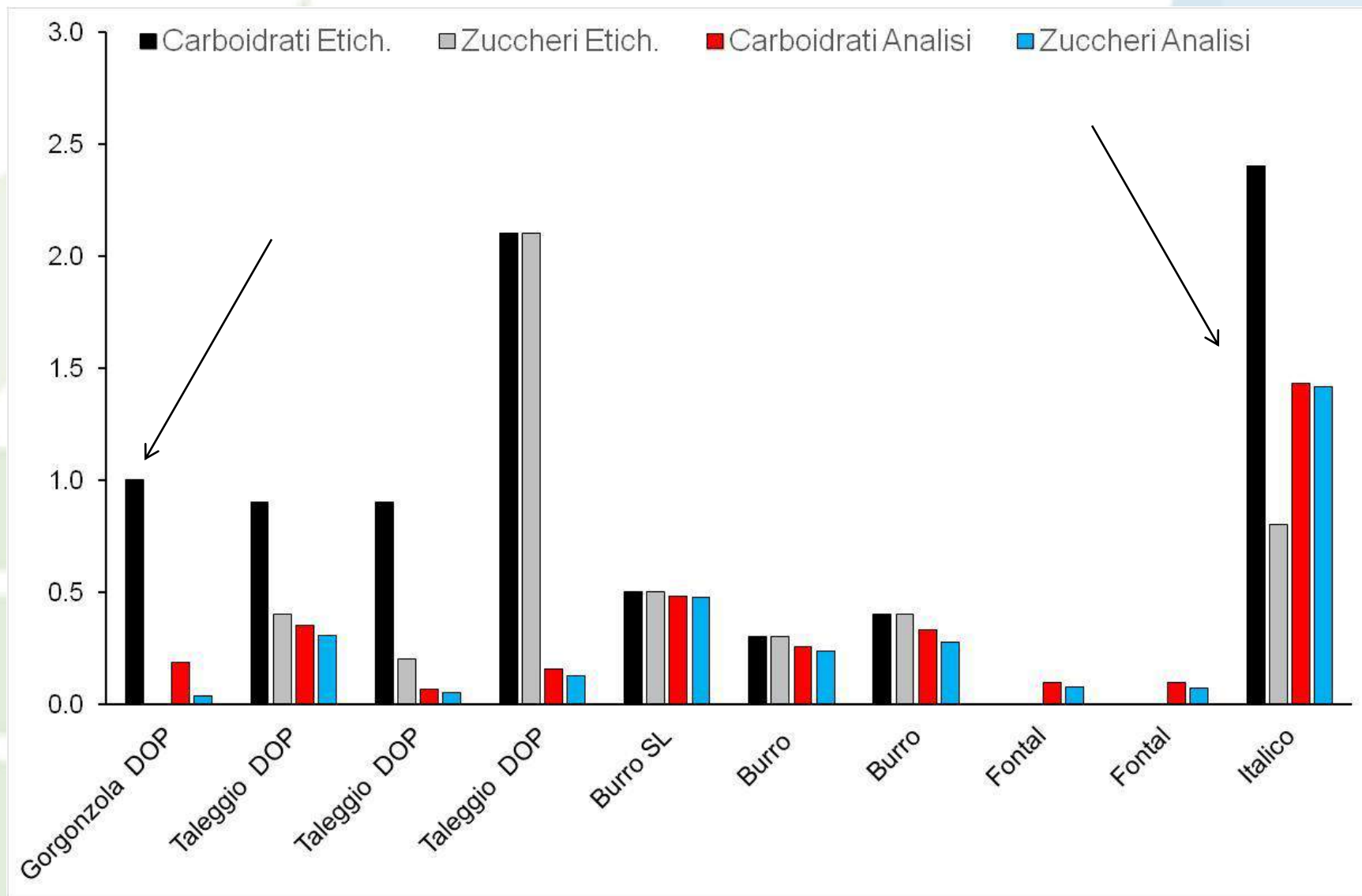
Purificazione su resina

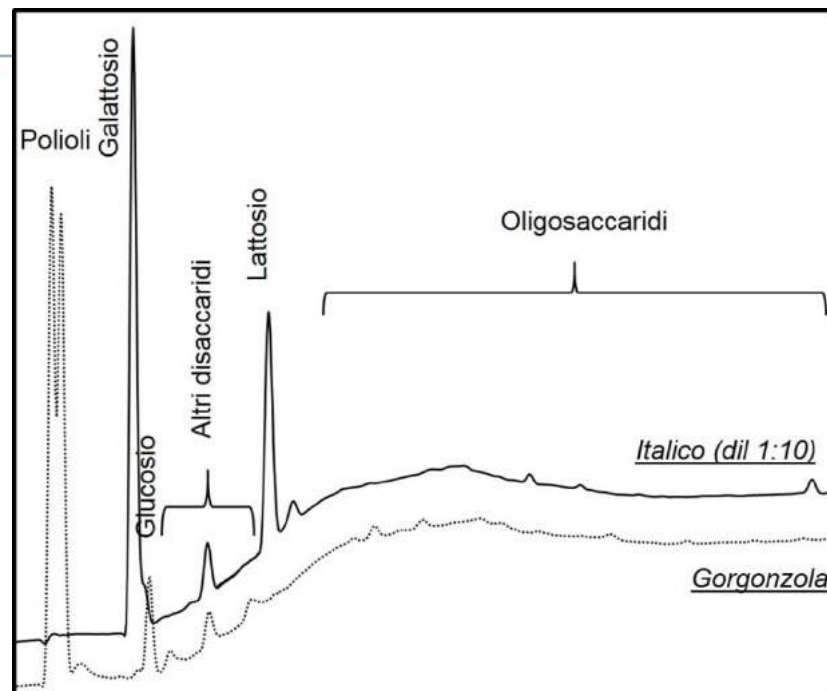
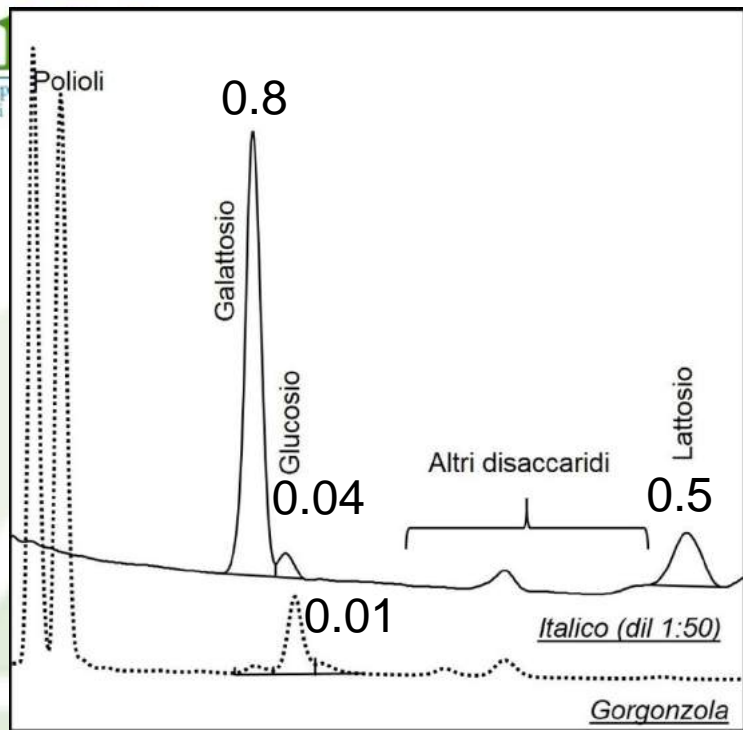


Verifica analitica di alcuni prodotti



Verifica analitica di alcuni prodotti





ETICHETTA SULLA CONFEZIONE

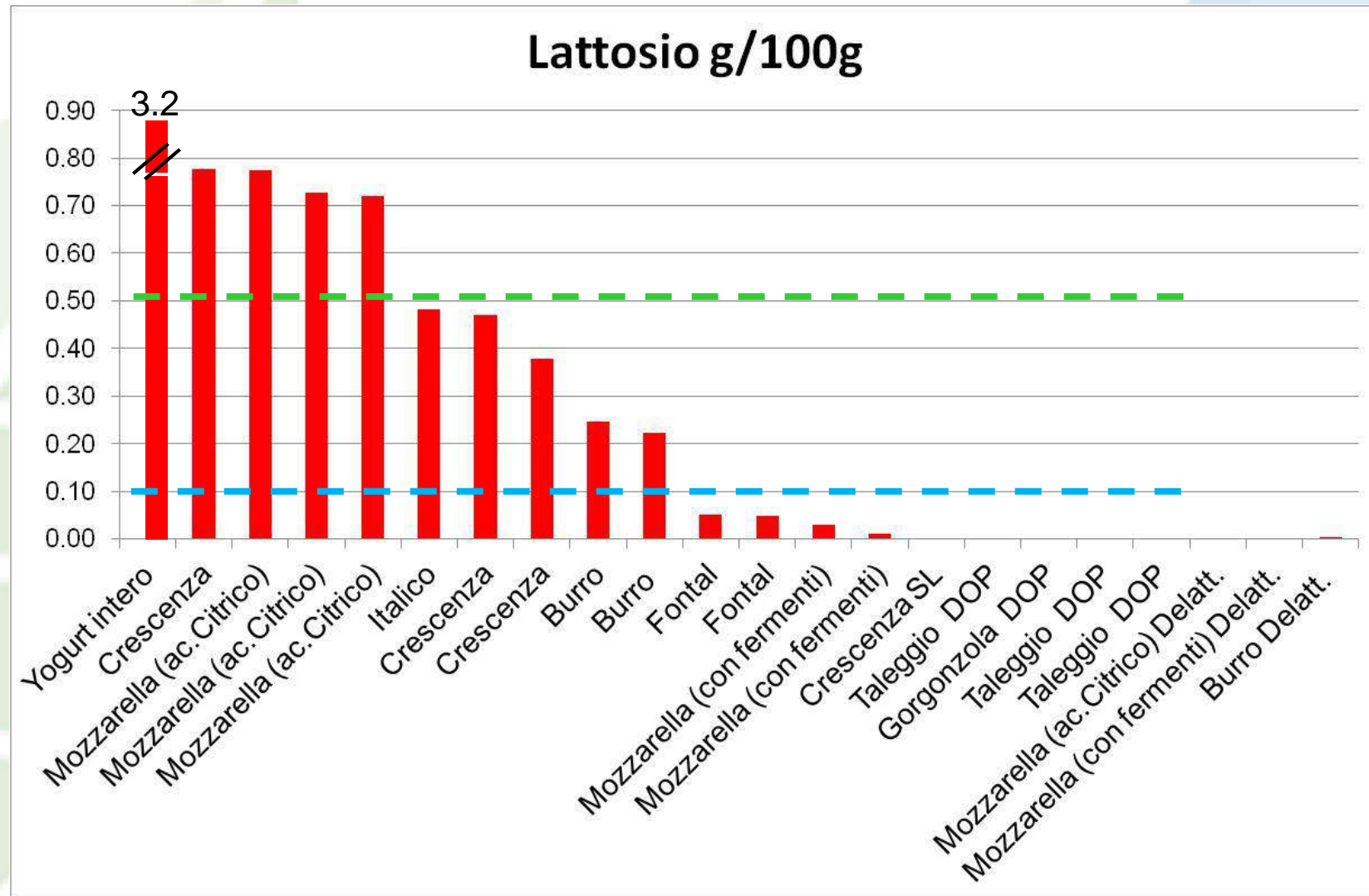
	Gorgonzola	Italice
Carboidrati	1	2.4
Zuccheri	0	0.8

ETICHETTA DOPO ANALISI

	Gorgonzola	Italice
Carboidrati	0.3 (0)	1.4
zuccheri	0	1.4

Analisi	Gorgonzola	Italice
polioli	0.24	0.00
galattosio	0.00	0.76
glucosio	0.01	0.04
lattosio	0.00	0.48
altri disaccaridi	0.02	0.12
GOS	0.02	0.07

Verifica di alcune etichette



3° Giusta normativa

Sped. abb. post. 4791 - art. 2 comma 2
Legge 23-12-1998, n. 662 - Filiale di Roma

Numero
GAZZETTA UFFICIALE
DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA

DIRETTORE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DELLA
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'EDIFICIO PALAZZO DI VIA

La Gazzetta Ufficiale, oltre alla Serie generale, è pubblicata in diverse edizioni, ciascuna con una
di autonoma numerazione: - UFFICIO PUBBLICAZIONE (ROMA), CONSIGLIO DI AMMINISTRAZIONE

- 1° Serie speciale: Corte costituzionale (pubblicata il mercoledì)
- 2° Serie speciale: Comunità europee (pubblicata il lunedì e il venerdì)
- 3° Serie speciale: Risposte pubbliche (pubblicata il giovedì)
- 4° Serie speciale: Concorsi ed esami (pubblicata il martedì e il venerdì)
- 5° Serie speciale: Concorsi pubblici (pubblicata il lunedì, il mercoledì e il venerdì)



2018

ANALYTICA

Roma, 14-15 Marzo

**La conta totale della carica microbica in preparazioni starter e
formulazioni probiotiche mediante citometria a flusso**

Stefania Arioli

stefania.arioli@unimi.it

Dipartimento di Scienze per gli Alimenti la Nutrizione e l'Ambiente, DeFENS

Università degli Studi di Milano

1. FLOW CYTOMETRY: INTRODUCTION

2. INTERNATIONAL STANDARD ISO 19344:2015 IDF 232

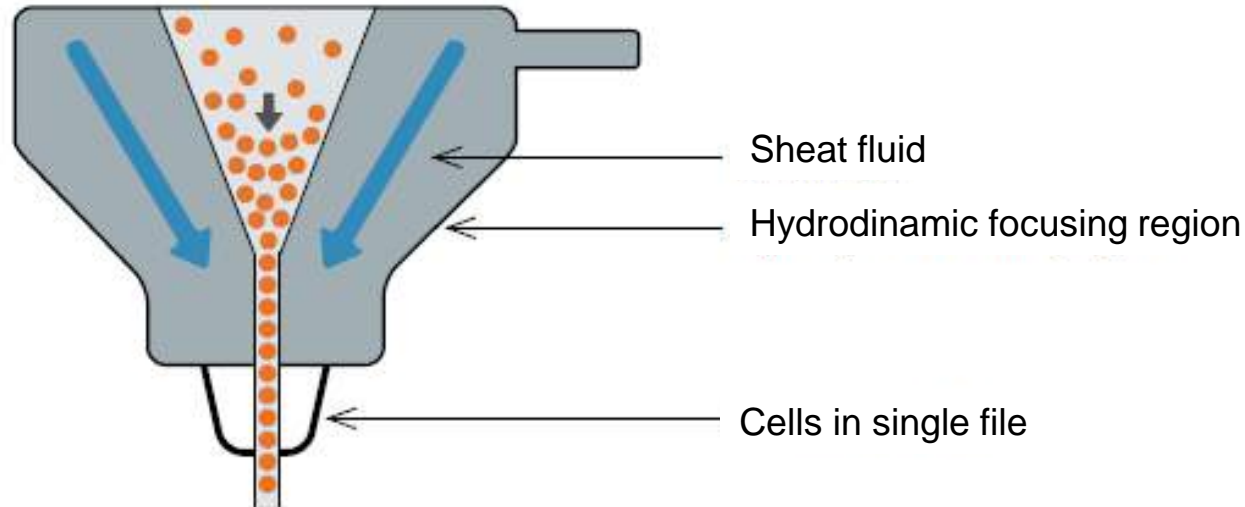
3. ISO 19344:2015 APPLICATIONS

- ✓ Count of viable cells in a multistrain probiotic formulation
- ✓ Quantification of viable cells of lactic acid bacteria and probiotics during their shelf-life at 25°
and 40°C

4. CONCLUSIONS

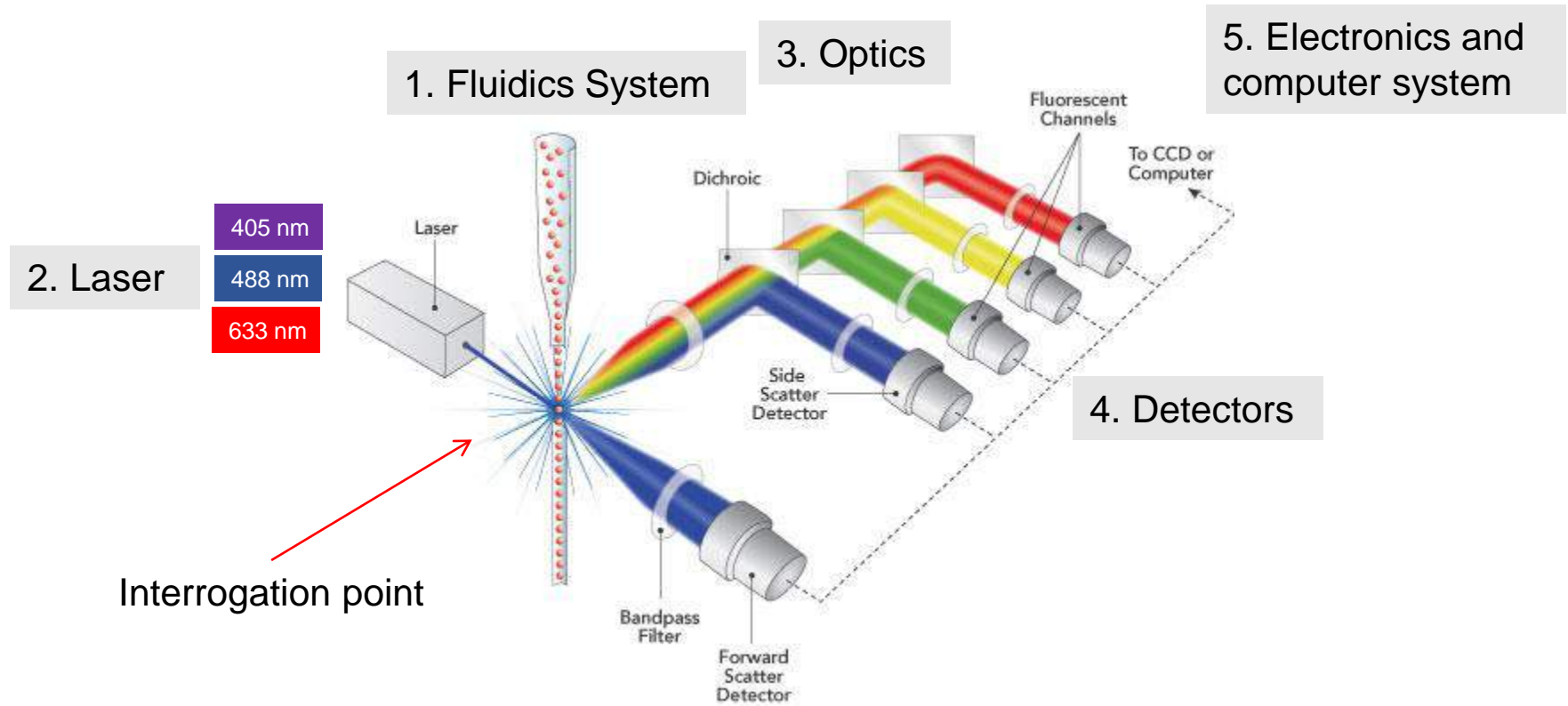
Principle of the Flow Cytometry (FCM) HYDRODINAMIC FOCUSING

FCM for analyzing a large and heterogeneous population of cells in a fluid stream

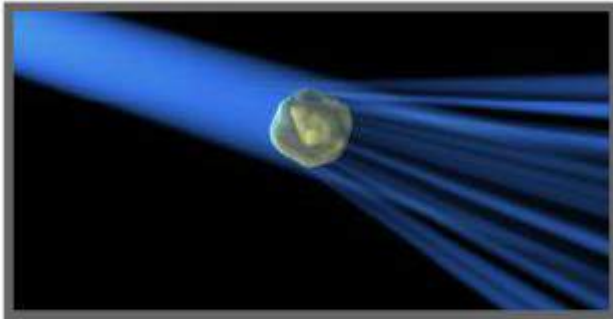


- i. The fluidic system consists of a central core through which the sample fluid is injected, enclosed by another sheath fluid
- ii. The sample is introduced into the center and it is focused by the Bernoulli effect, thus determining a stream of particles in single file
- iii. Particles or cells are passed through the laser beam one at a time, thanks to a sheath fluid

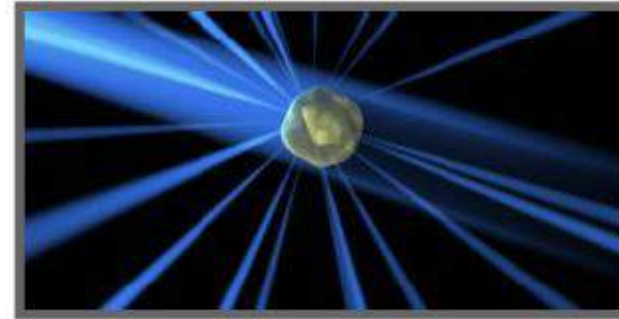
How FCM works...



- After hydrodynamic focusing, each particle passes through one or more beams of focused light
- Light scattering or fluorescence emission Lasers produce a single wavelength of light (a laser line) at a specific frequency (wavelengths ranging from ultraviolet to far red)



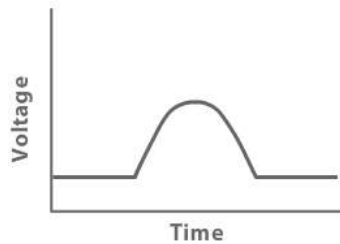
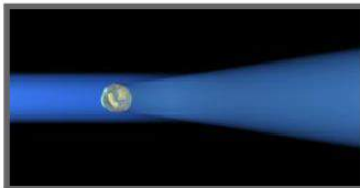
Forward scatter



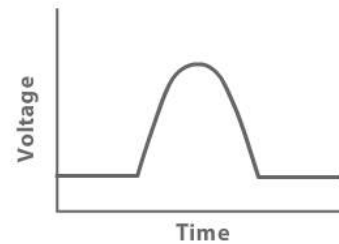
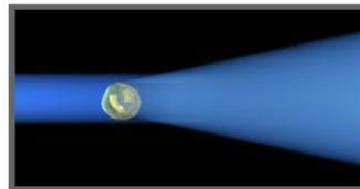
Side scatter

- ❑ Proportional to cells size and complexity
- ❑ Light is quantified by a detector that converts intensity into voltage
- ❑ The scattered light received by the detector is translated into a voltage pulse

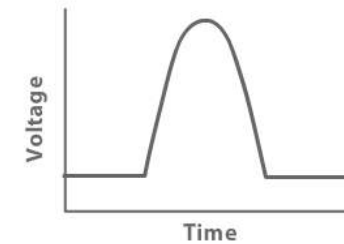
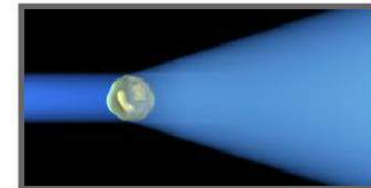
Small

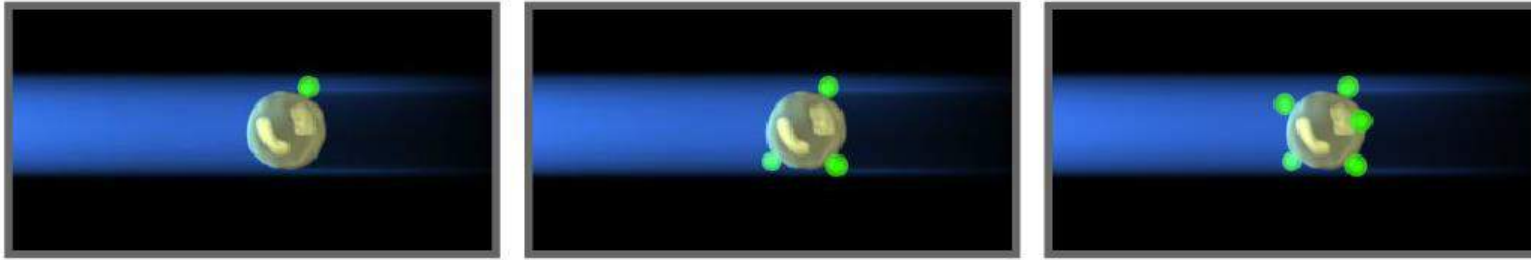


Medium

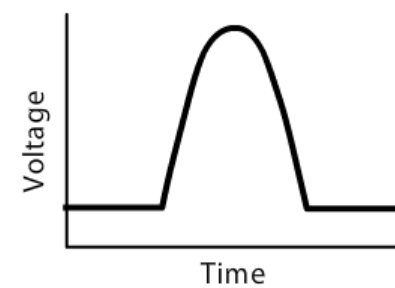
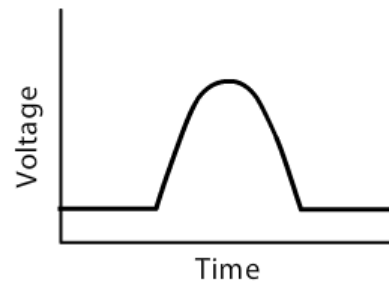
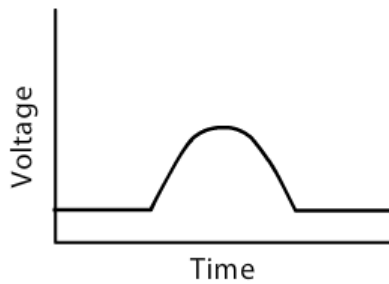


Large



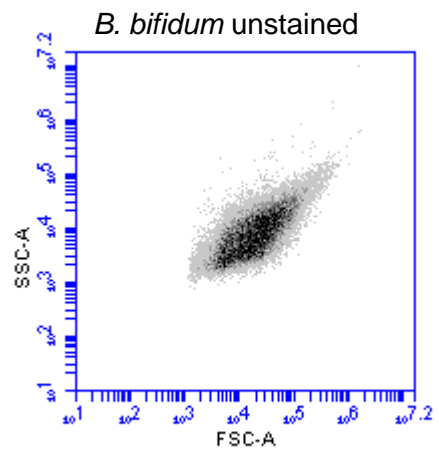


Fluorescence

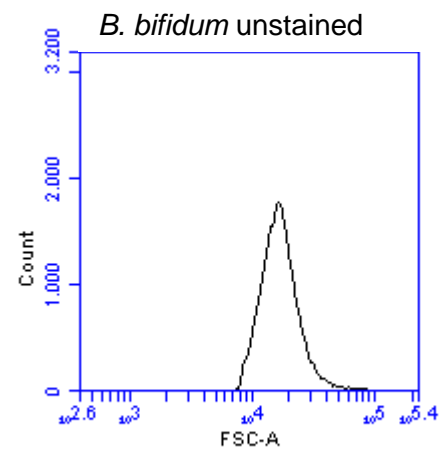


- ❑ The fluorescence light from labelled cells follows the same path of SSC signal
- ❑ It is directed to a series of filters and mirrors, then delivered to the right detectors, where it is translated into a voltage pulse proportional to the amount of fluorescence emitted
- ❑ In a population of labelled cells, some would be brighter than others
- ❑ All the pulses can be recorded and represented as histogram or 2D dot plot

2D Dot plot



Histogram



**INTERNATIONAL
STANDARD
ISO 19344:2015 (IDF 232)**

Milk and milk products – Starter cultures, probiotics and fermented products – Quantification of lactic acid bacteria by flow cytometry

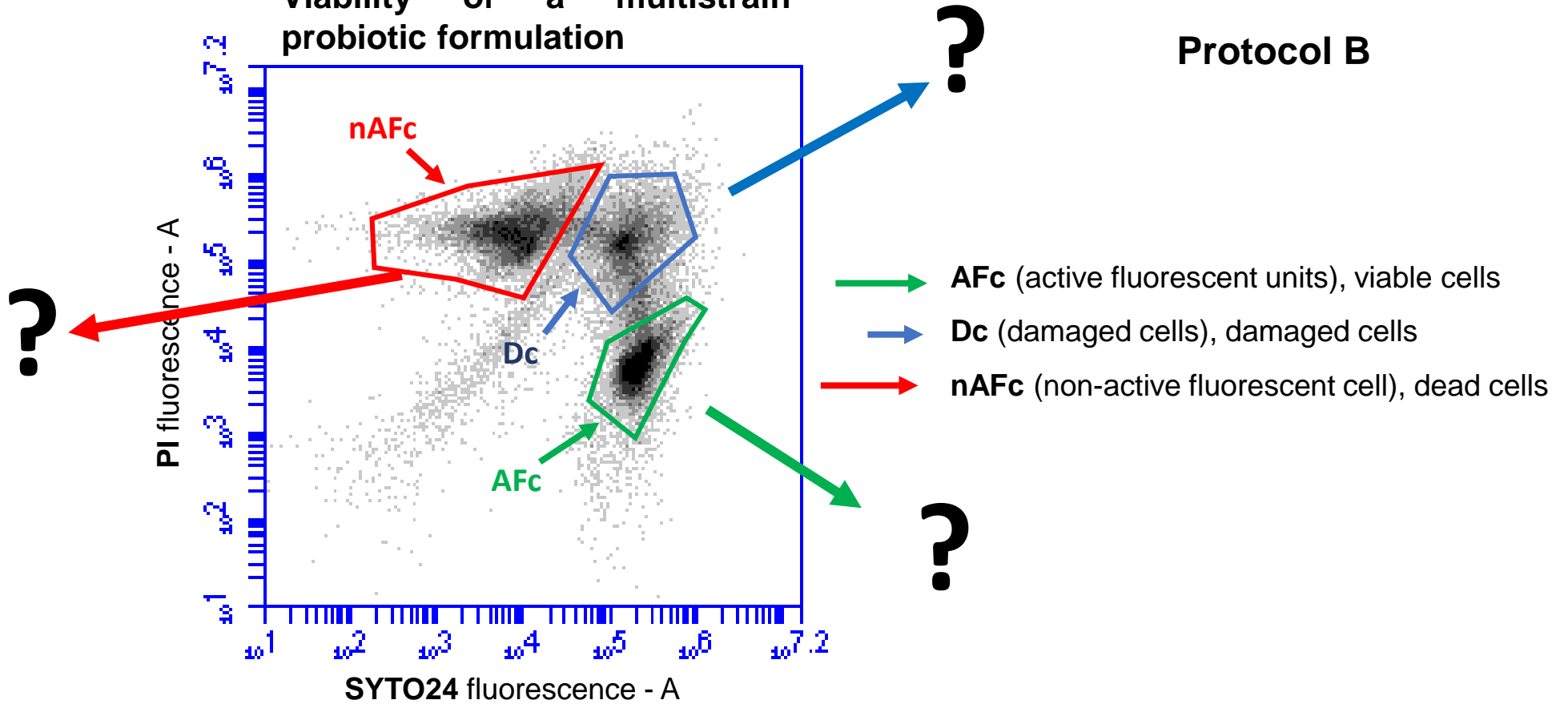
FCM standardized method for

QUANTIFICATION (Total Fluorescent Unit/g or /ml) and **VIABILITY** (Active Fluorescent Unit/g) evaluation of

- ✓ Starter cultures (lactic acid bacteria)
- ✓ Probiotics
- ✓ Fermented milk products

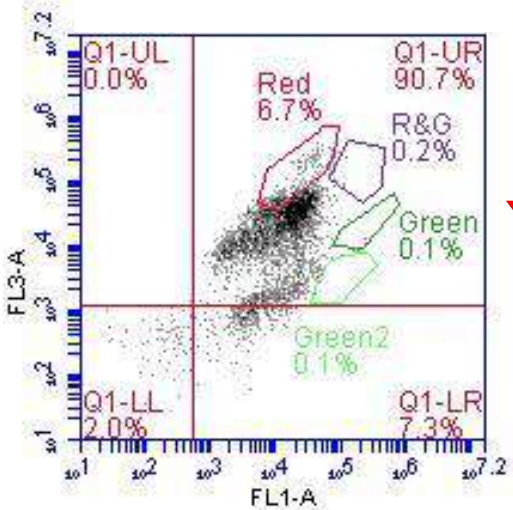
Viability of a multistrain probiotic formulation

ISO 19344
Protocol B

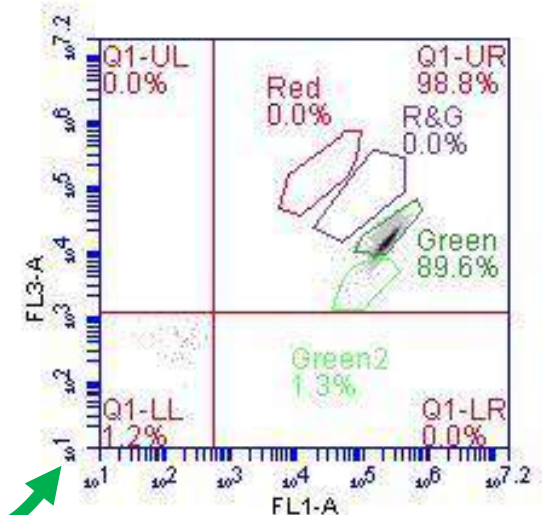
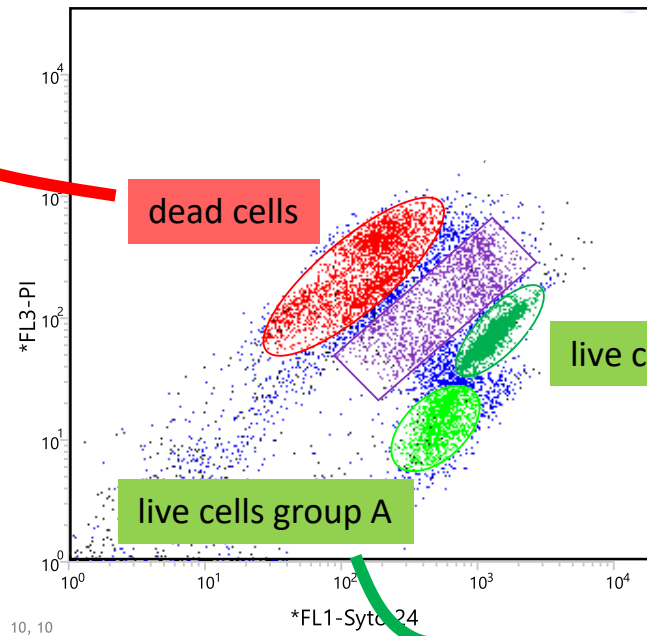


✓FCM No taxonomic approach

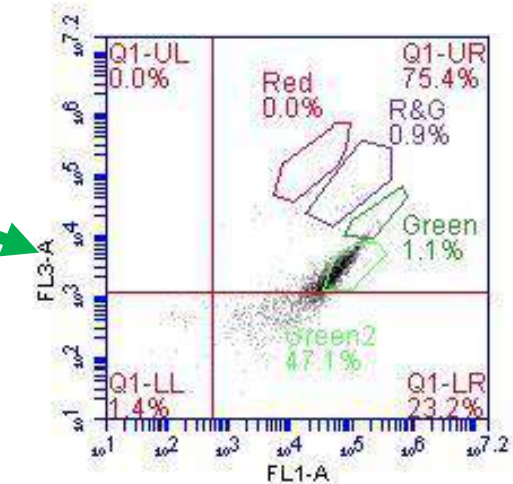
Fluorescent Active Cell Sorting of AFc and nAFc populations



2,9 x 10⁶ sorted nAFUs



1,0 x 10⁶ sorted AFUs

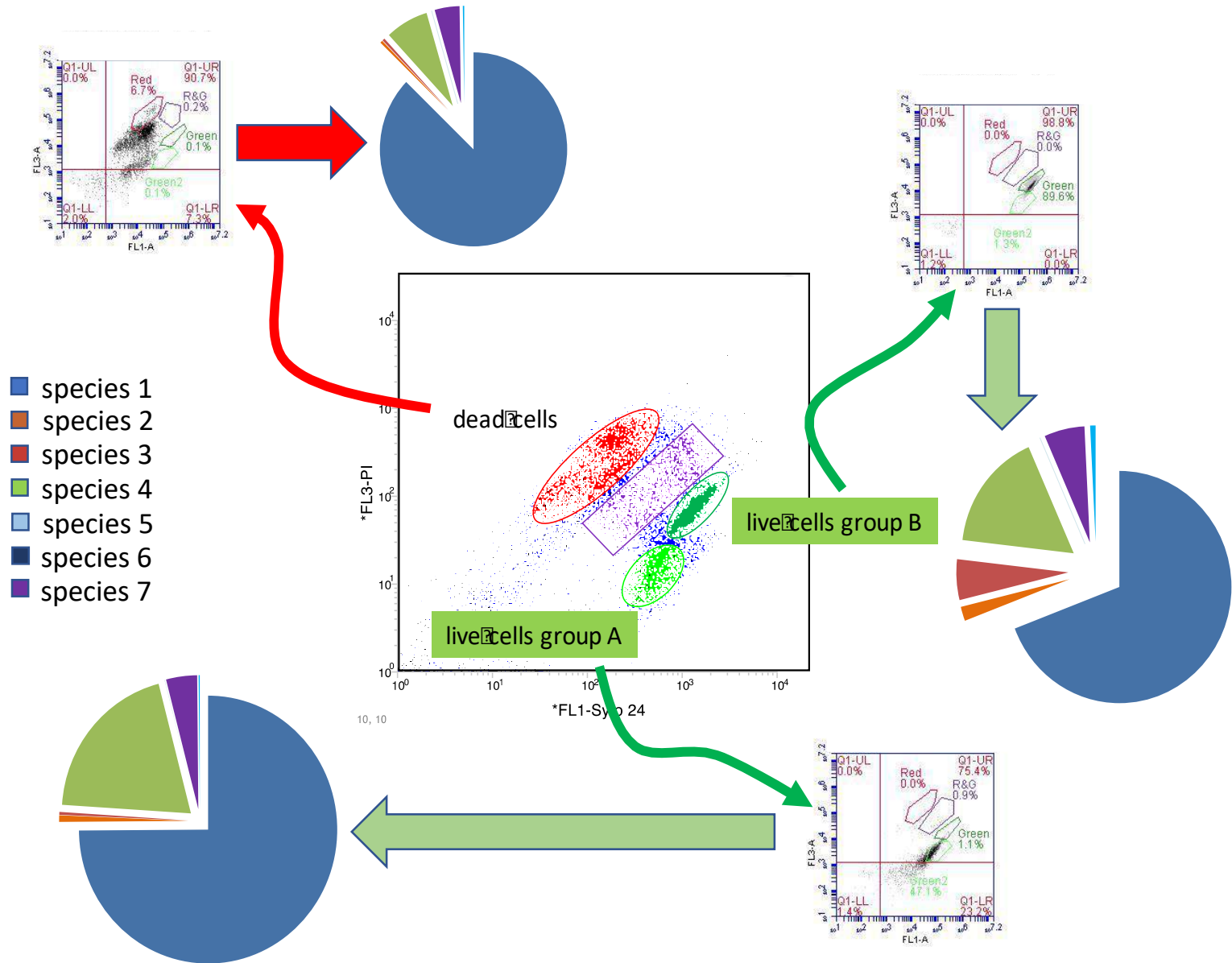


6,6 x 10⁵ sorted AFUs

On sorted populations:

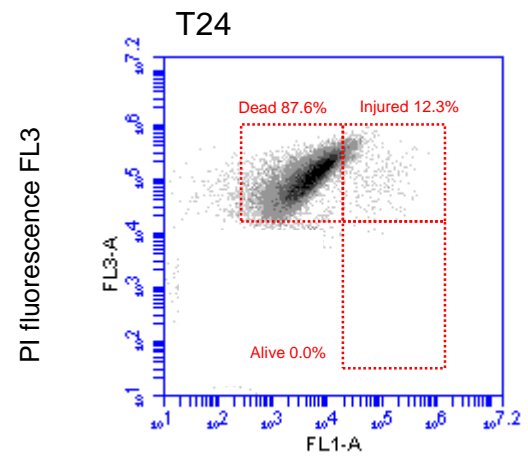
- ✓ DNA extraction
- ✓ qPCR with species-specific primer

Relative abundance of each species in the sorted populations



3. ISO 19344:2015 APPLICATIONS

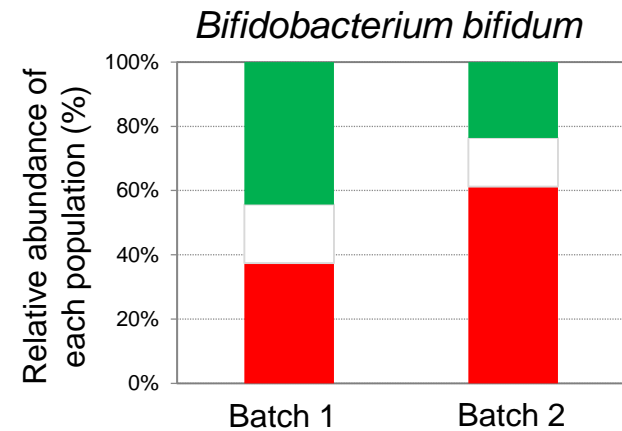
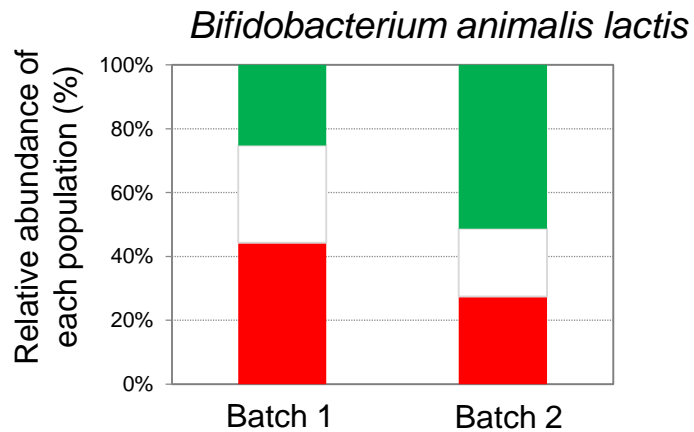
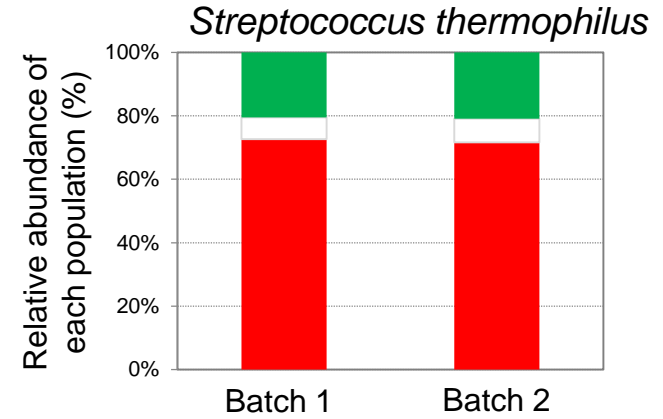
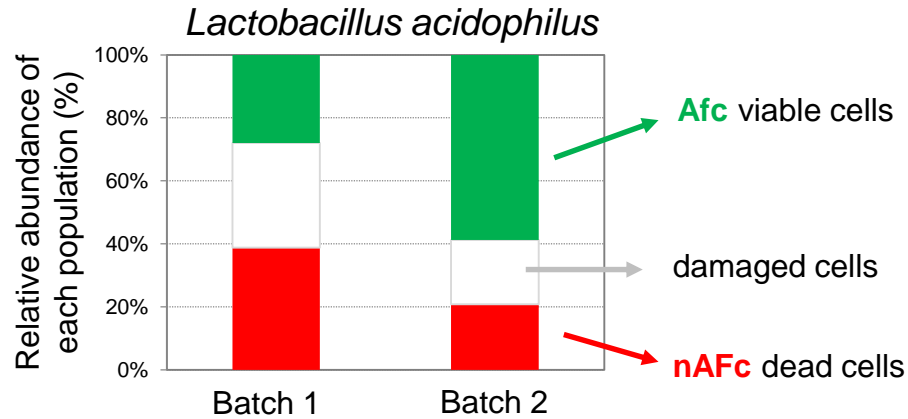
- ✓ Evaluation of a multi-strain probiotic formulation viability
- ✓ Viability monitoring of lactic acid bacteria and probiotics during shelf-life at 25° and 40°C
 - Protocol B: dilution buffer (Maximum Recovery Diluent, Mitsuoka buffer, PBS)
 - «break» of the sample
 - Set-up flow cytometer (FSC and SSC thresholds)
 - Absolute counting beads



Syto 24 Fluorescence FL1

✓ **VIABILITY** of liophylized starter cultures

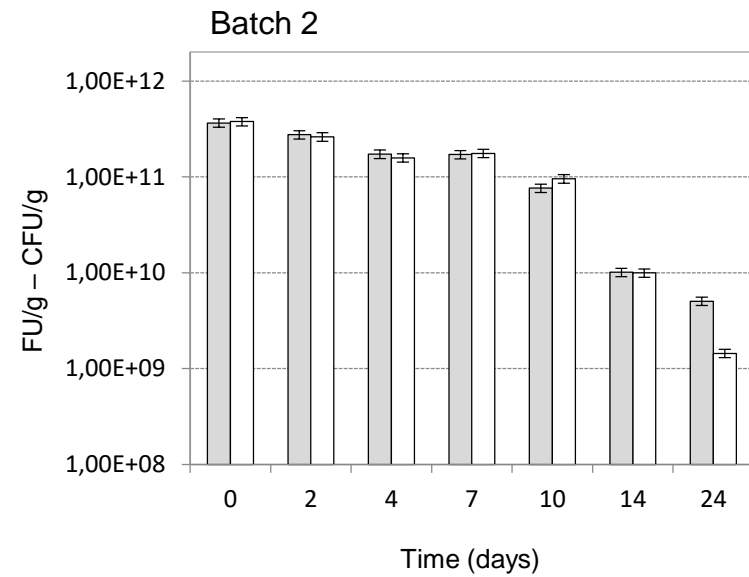
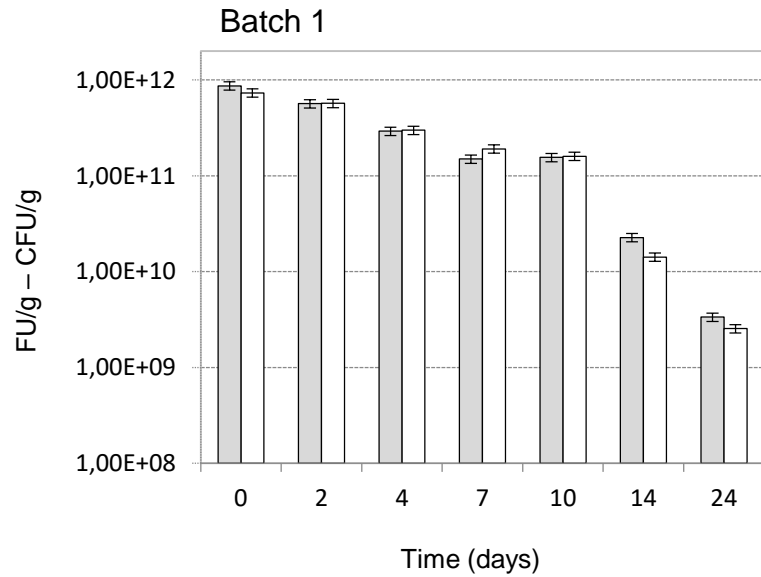
✓ **Inter-batch VARIABILITY**



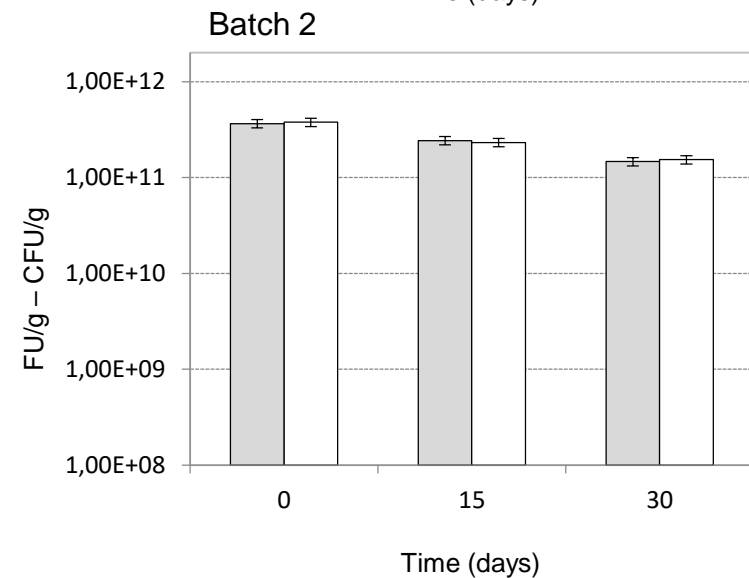
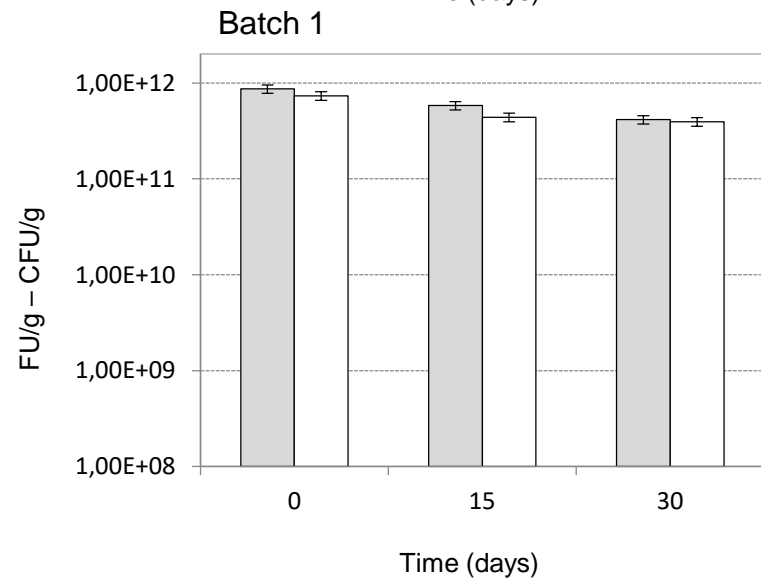
✓ **VIABILITY** of liophylized cultures (shelf-life at 25°C e 40°C)

B. bifidum

40°C

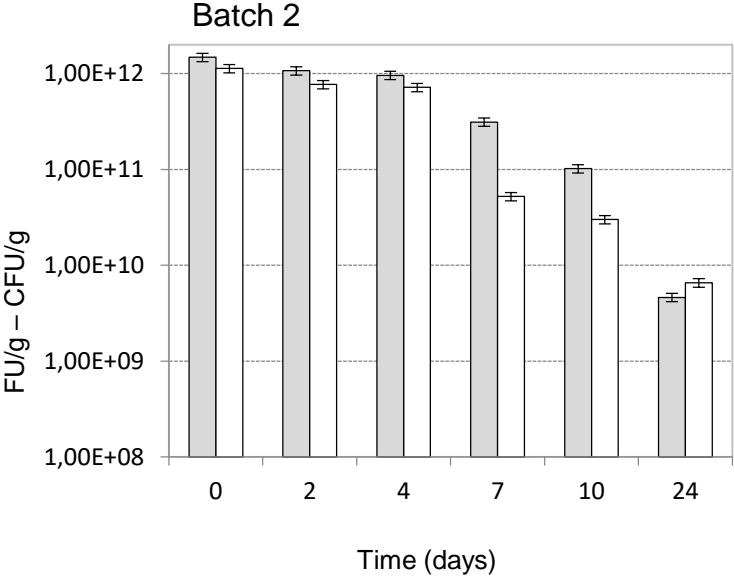
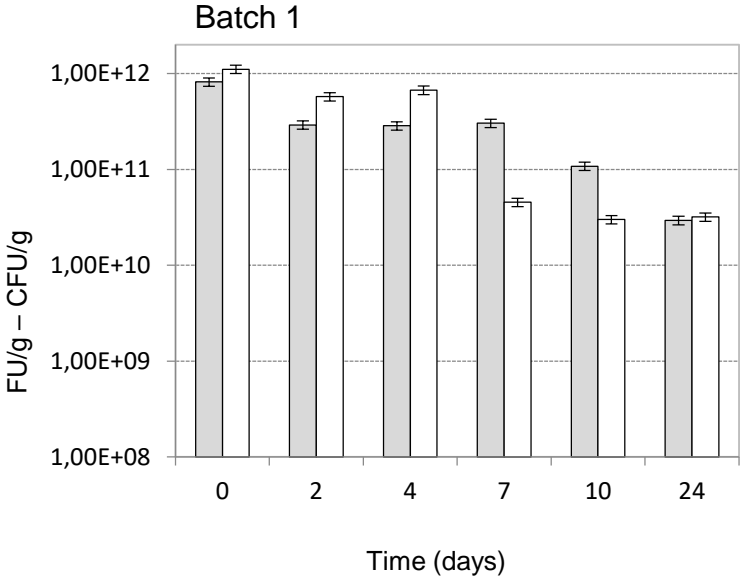


25°C

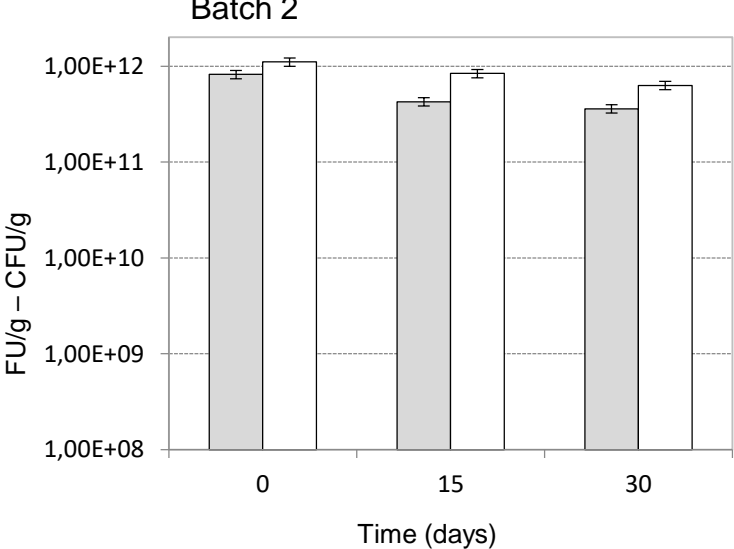
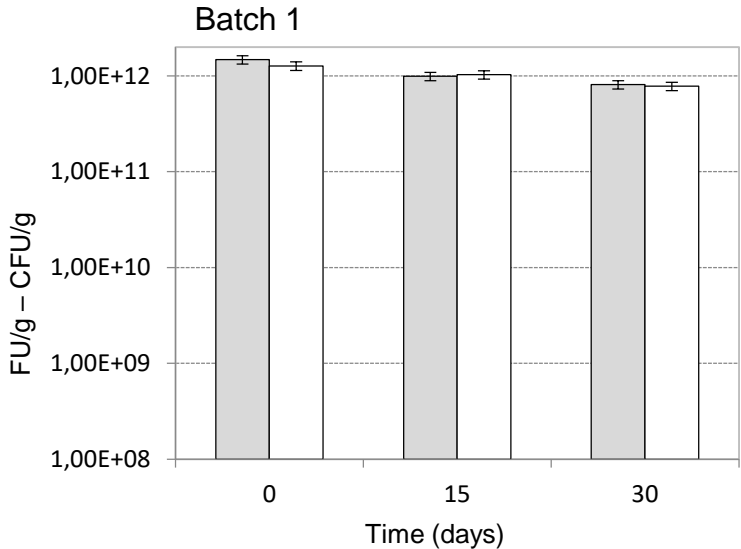


B. animalis lactis

40°C

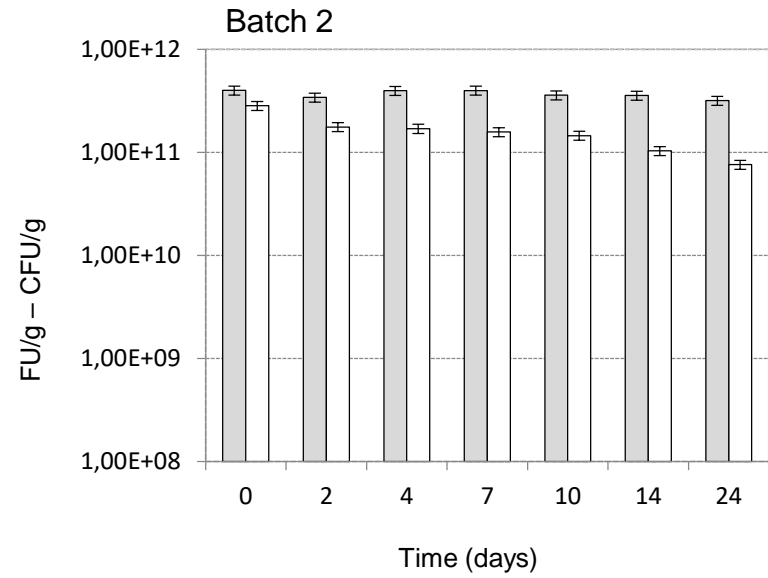
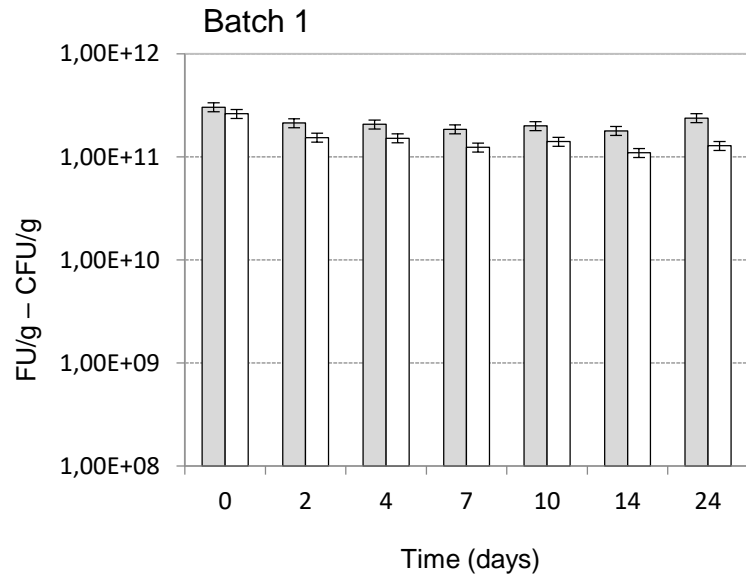


25°C

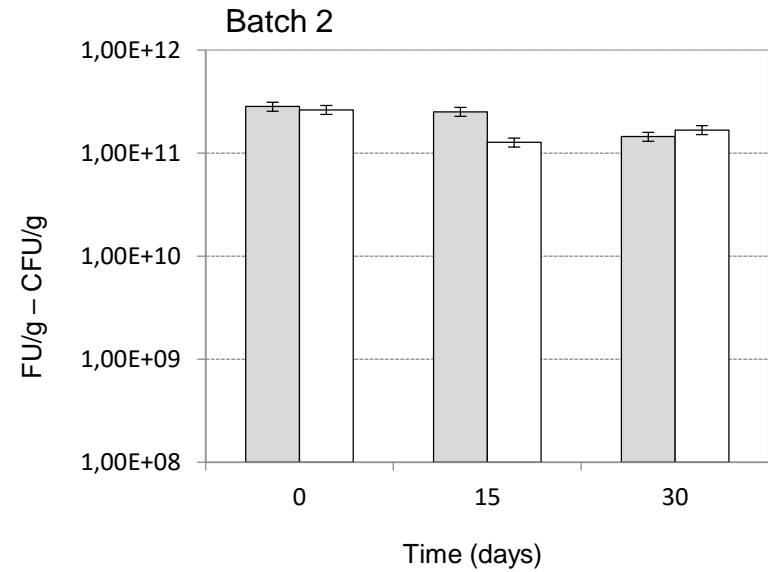
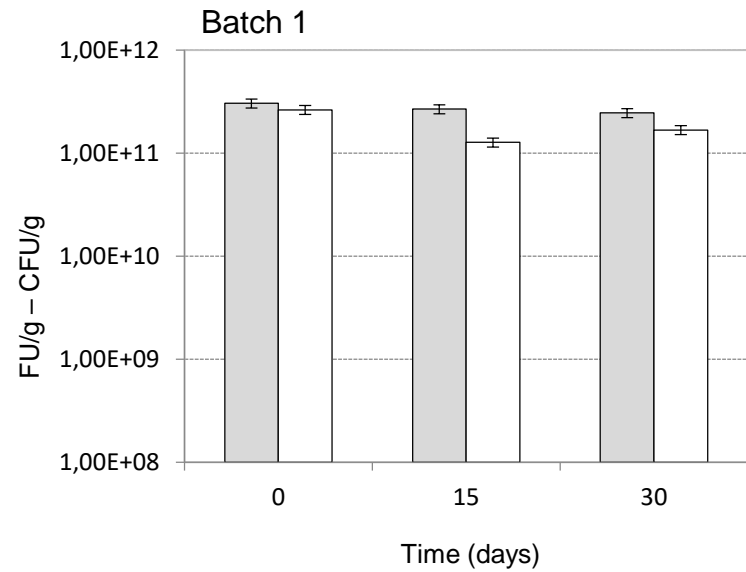


L. acidophilus

40°C

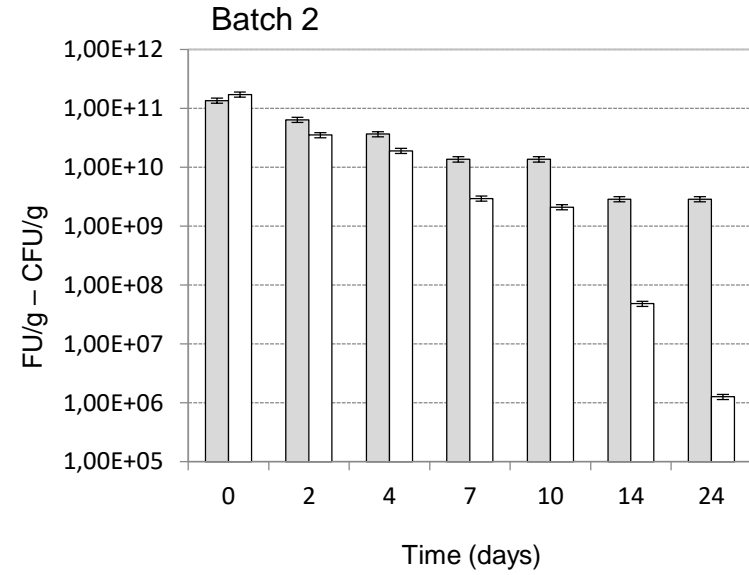
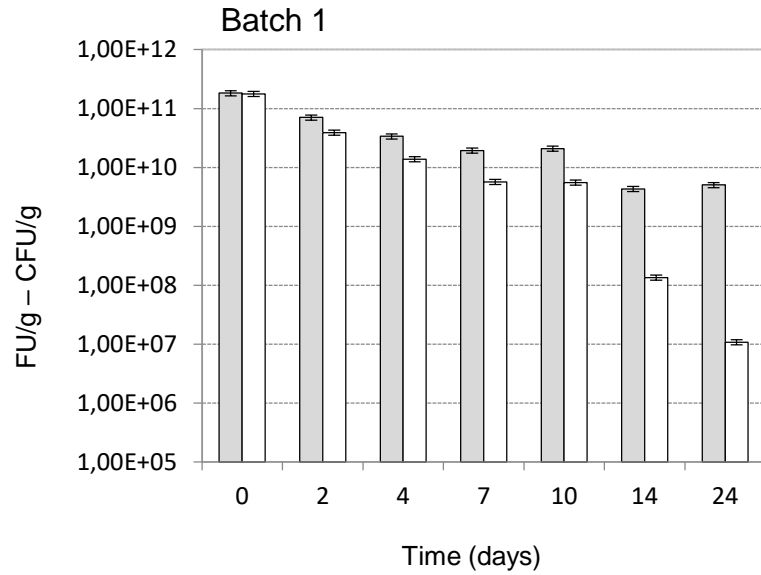


25°C

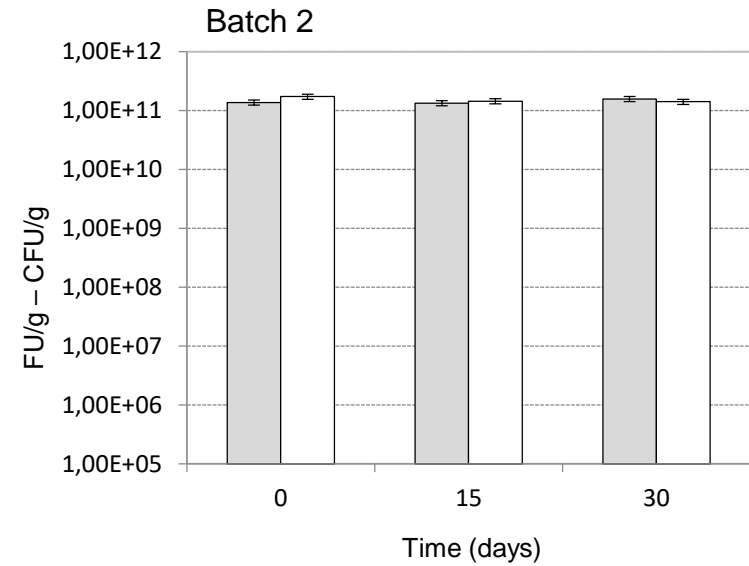
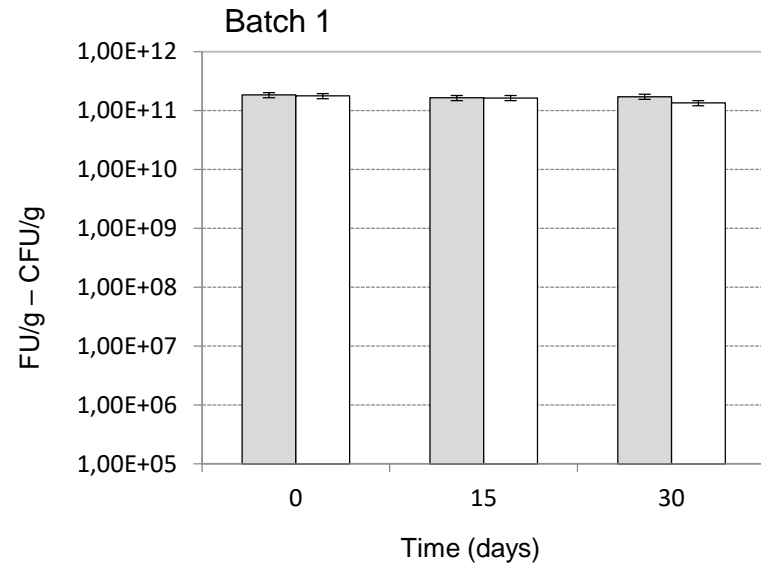


S. thermophilus

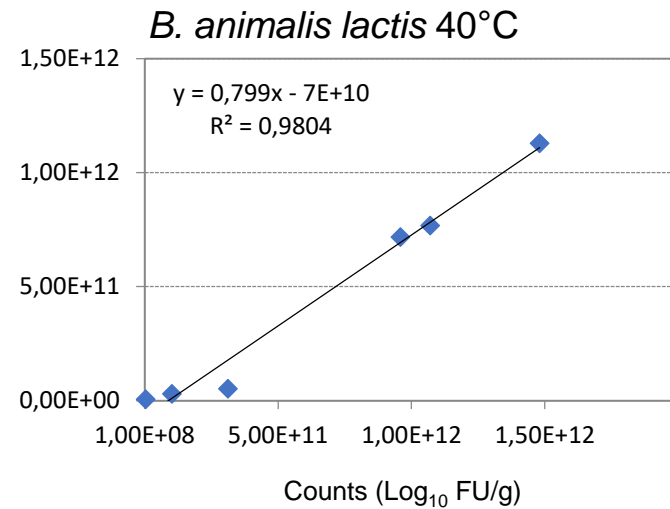
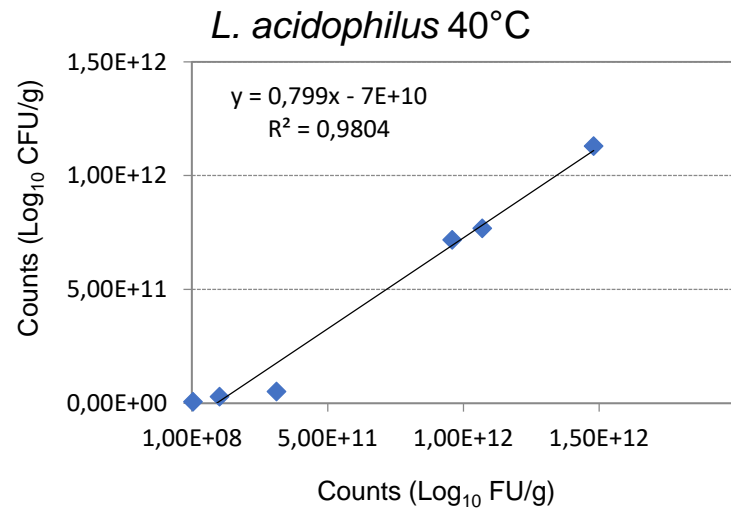
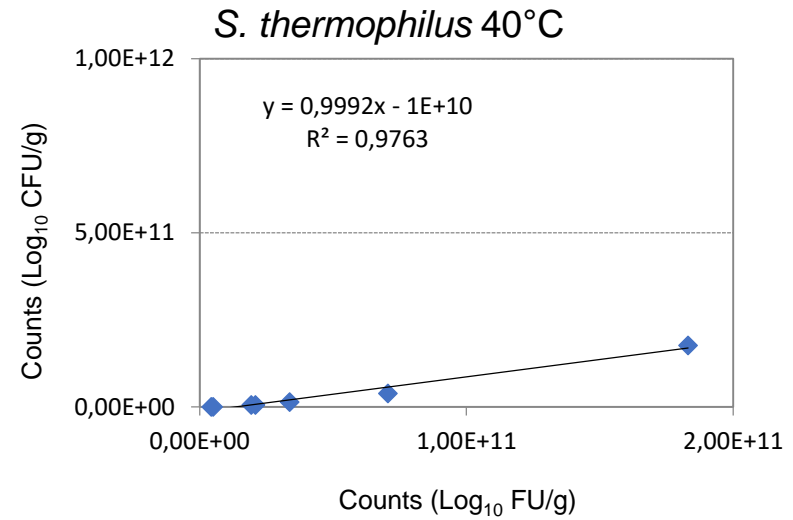
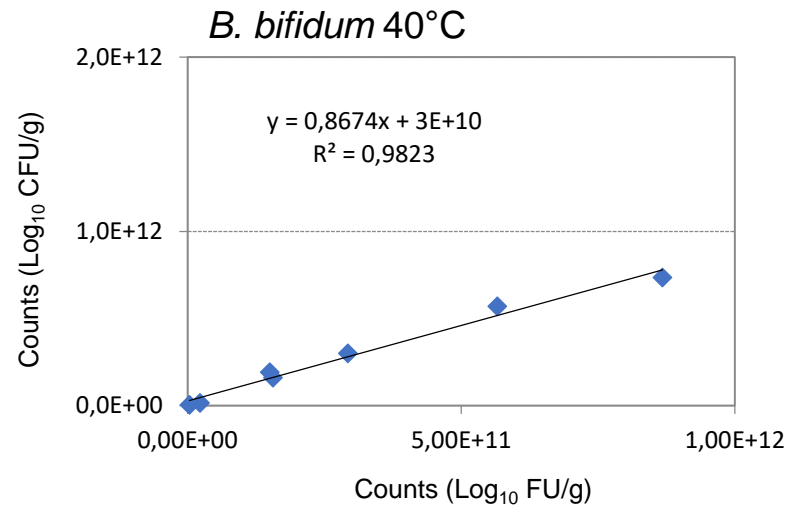
40°C



25°C



Viability vs Culturability



PROS of FCM in Microbiology

- ✓ Rapid analysis
- ✓ Accuracy (<5%)
- ✓ Generation of multi-parameters
- ✓ Ease to obtain statistically relevant data set
- ✓ Microbial cells can be detected irrespective of their cultivability (**Viable But Not Culturable**)
- ✓ Viability > Culturability (VBNC)
- ✓ Analysis at single-cell level
- ✓ Correlation viability - culturability

CONS of FCM in Microbiology

- ✓ No taxonomic approach



Department of Food, Environmental, and Nutritional Sciences (DeFENS)

University of Milan

Prof Diego Mora

Dr Stefano Colombo

Dr Giulia Della Scala

Dr Milda Stuknyte



FACS-service@unimi.it

Stefania Arioli stefania.arioli@unimi.it

Diego Mora diego.mora@unimi.it

Milda Stuknyte milda.stuknyte@unimi.it



Dr Fabio Dal Bello

Dr Ines Martinez



THANK YOU FOR YOUR ATTENTION

Sommario

1. FTIR ieri, oggi e domani
2. Applicazioni "recenti" FTIR
3. Applicazioni "recenti" NIRS
4. Conclusioni - Prospettive

Ringraziamenti

Federazione Latterie Alto Adige
Latteria di Soligo
Granarolo SPA
IZS Lazio e Toscana
FOSS



FOSS



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Gruppo di Ricerca

Sarah Currò, Marco Franzoi, Giovanni Niero, Anna Benedet,
Angela Costa, Tania Bobbo, Filippo Cendron, Carmen Manuelian,
Proff. Cassandro & Penasa

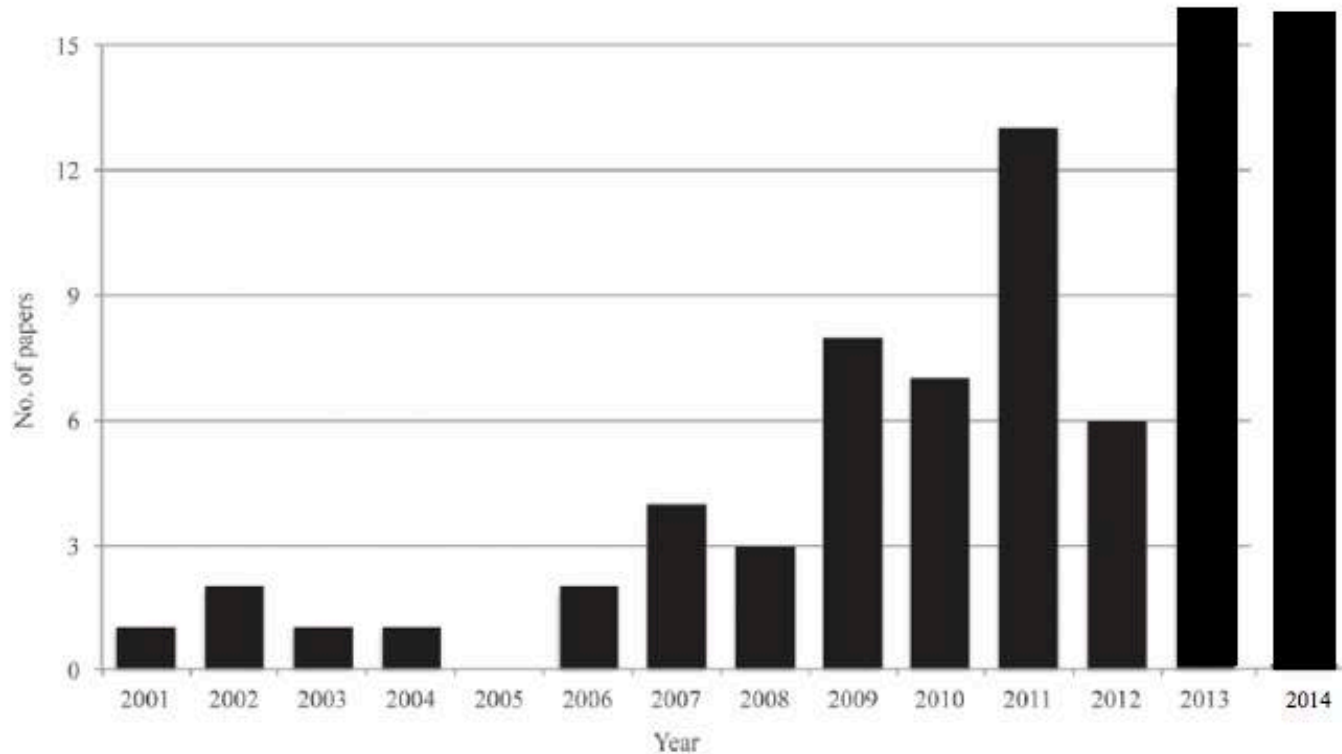
Sommario

1. FTIR ieri, oggi e domani
2. Applicazioni "recenti" FTIR
3. Applicazioni "recenti" NIRS
4. Conclusioni - Prospettive

FTIR ieri, oggi e domani

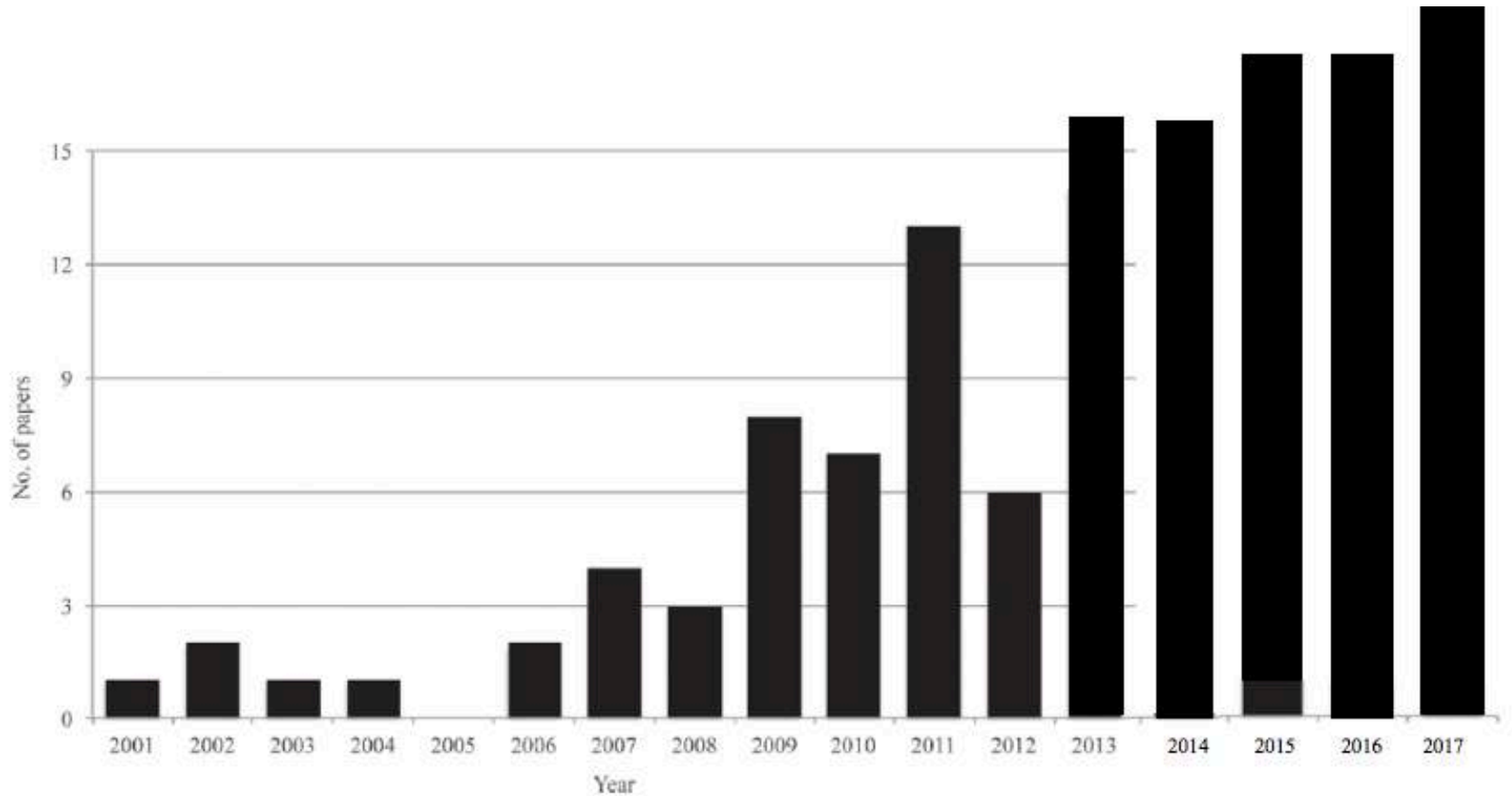
- Grande interesse ...

Grande interesse



*Published papers (retrieved from ISI Web of Science: <http://thomsonreuters.com/web-of-science/>) on mid-infrared spectroscopy (MIRS) and milk (De Marchi et al., 2014. Invited review: Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits. *J. Dairy Sci.* 97 :1171-1186).*

Grande interesse



Published papers (retrieved from ISI Web of Science; <http://thomsonreuters.com/web-of-science/>) on mid-infrared spectroscopy (MIRS) and milk.

FTIR ieri, oggi e domani

- Grande interesse
- Accuratezza: un concetto relativo

Accuratezza: un concetto relativo

- In relazione all'utilizzo del fenotipo predetto
 - SPLQ, screening, miglioramento genetico ...

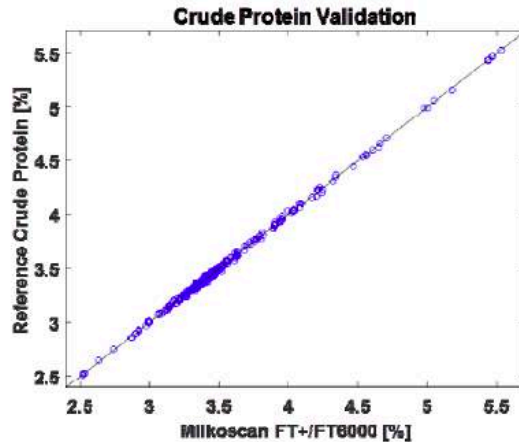


Fig. 9 The actual Protein reference values versus the predicted result.

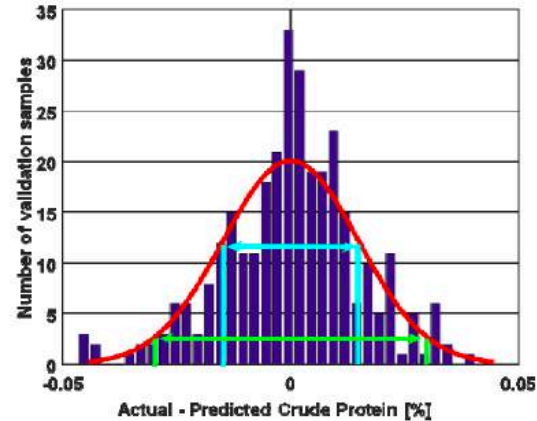


Fig. 10 Histogram of the difference between the actual and predicted values.

Accuratezza: un concetto relativo

- In relazione all'utilizzo del fenotipo predetto
 - SPLQ, screening, miglioramento genetico ...
- Ridotta per i nuovi fenotipi

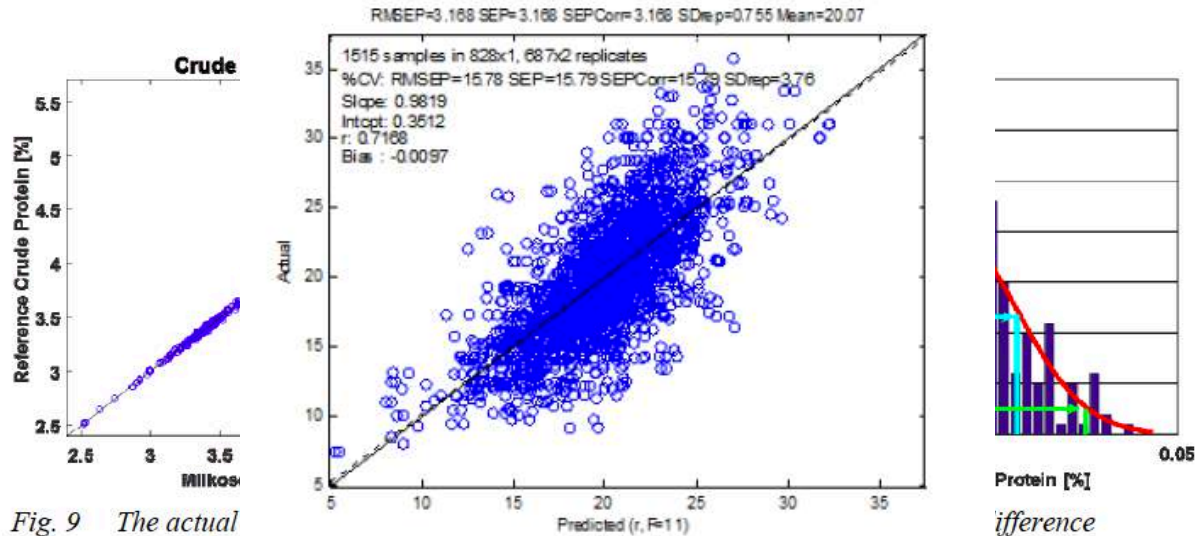


Fig. 9 The actual values versus the predicted result.

difference between the actual and predicted values.

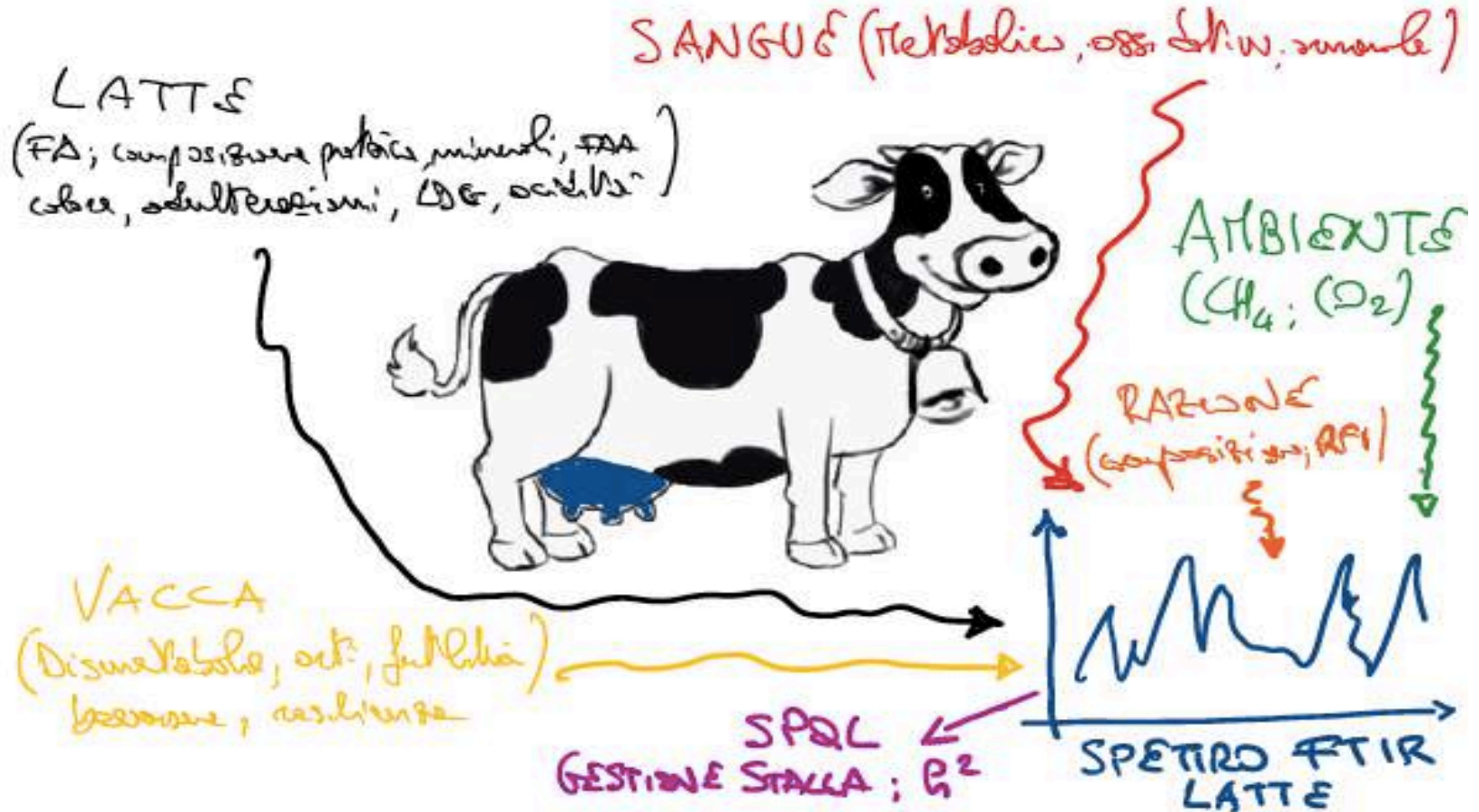
FTIR ieri, oggi e domani

- In relazione all'utilizzo del fenotipo predetto
 - SPLQ, screening, miglioramento genetico ...
- Accuratezza: un concetto relativo
- Studio ed implementazione di nuovi approcci di interpretazione e utilizzo dei modelli di predizione e divulgazione dei risultati

FTIR ieri, oggi e domani

- In relazione all'utilizzo del fenotipo predetto
 - SPLQ, screening, miglioramento genetico ...
- Accuratezza: un concetto relativo
- Studio ed implementazione di nuovi approcci di interpretazione e utilizzo dei modelli di predizione e divulgazione dei risultati
- Da "composto chimico" a fenotipo (predizione indiretta)

Da "composto chimico" a fenotipo



Da "composto chimico" a fenotipo

- LATTE: composizione chimica, caseina, urea, pH, acidità titolabile ...
- LATTE: composizione acidi grassi, profilo proteico e minerale, caratteristiche tecnologiche, galattosio, glucosio, ...
- SIERO: composizione proteica (es. lattoferrina), acidità, minerali
- VACCA (LATTE): dismetabolie (es. chetosi), patologie riproduttive (es. metriti; involuzioni ovariche), razionamento (es. RFI), emissioni (es. CH₄)
- VACCA (SANGUE o altre matrici)

FTIR ieri, oggi e domani

- In relazione all'utilizzo del fenotipo predetto
 - SPLQ, screening, miglioramento genetico ...
- Accuratezza: un concetto relativo
- Studio ed implementazione di nuovi approcci di interpretazione e utilizzo dei modelli di predizione e divulgazione dei risultati
- Da "composto chimico" a fenotipo (predizione indiretta)
- Laboratorio: "luogo strategico"

Sommario

1. FTIR ieri, oggi e domani



2. Applicazioni "recenti" FTIR

3. Applicazioni "recenti" NIRS

4. Conclusioni - Prospettive

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione Capacità Antiossidante - Latte Vaccino
- Predizione Colore - Latte Vaccino
- Predizione Amminoacidi liberi - Latte Vaccino
- Predizione Ca, P, Mg Organico/solubile - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione MCP e TA - Latte Ovino
- Predizione MCP e TA - Latte Caprino
- Predizione Composizione Proteica Siero
- Predizione Lattosio, Glucosio e Galattosio

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione Capacità Antiossidante - Latte Vaccino
- Predizione Colore - Latte Vaccino
- Predizione Amminoacidi liberi - Latte Vaccino
- Predizione Ca, P, Mg Organico/solubile - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione MCP e TA - Latte Ovino
- Predizione MCP e TA - Latte Caprino
- Predizione Composizione Proteica Siero
- Predizione Lattosio, Glucosio e Galattosio

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione Composizione Proteica Siero

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione Composizione Proteica Siero

Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia

- Modelli di predizione MIRS per i caratteri di attitudine casearia (MCP: tempo di coagulazione, RCT; consistenza del coagulo, a_{30}) (Foss Application Note 300) e l'acidità titolabile (TA)

	RCT, min	a_{30} , mm	TA, °SH/50mL
R ² Validazione	0.52	0.42	0.74
RMSE Validazione	3.16	8.72	0.17

- Granarolo (Bologna)

(De Marchi et al., 2017; Benedet et al., 2018)

Dati & Modello statistico

40,896 analisi di latte di massa (620 allevamenti / 10 regioni) fornite da Granarolo S.p.A. (Bologna) e relative al periodo novembre 2015 - ottobre 2016

Modello statistico:

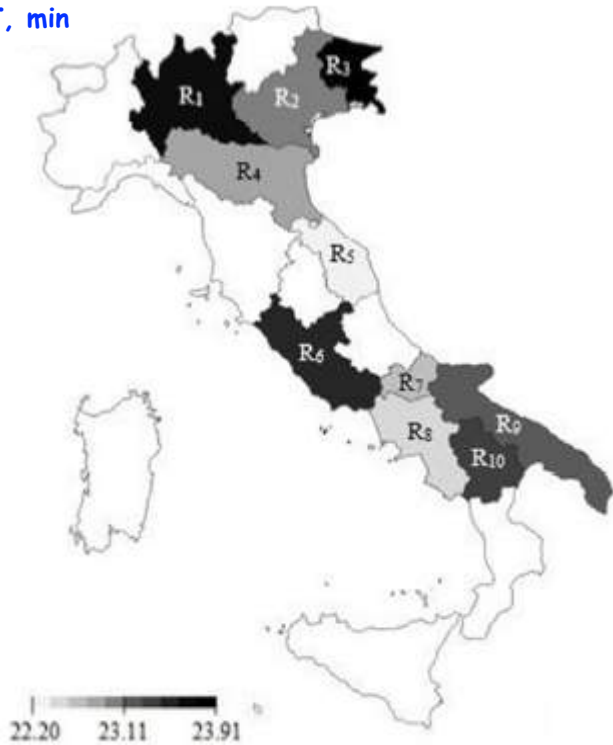
$$y = \mu + \text{regione} + \text{azienda}(\text{regione}) + \text{stagione} + \varepsilon,$$

dove y è la variabile dipendente (grasso, caseina, urea, SCS, RCT, a_{30} , TA); μ è l'intercetta del modello; *regione* è l'effetto della regione (da 1 a 10); *azienda(regione)* è l'effetto dell'azienda (da 1 a 620) entro regione; *stagione* è l'effetto della stagione di analisi, organizzata in classi bimestrali (da 1 a 6, dove 1 = novembre-dicembre; 2 = gennaio-febbraio; 3 = marzo-aprile; 4 = maggio-giugno; 5 = luglio-agosto; 6 = settembre-ottobre); ε è l'errore casuale.

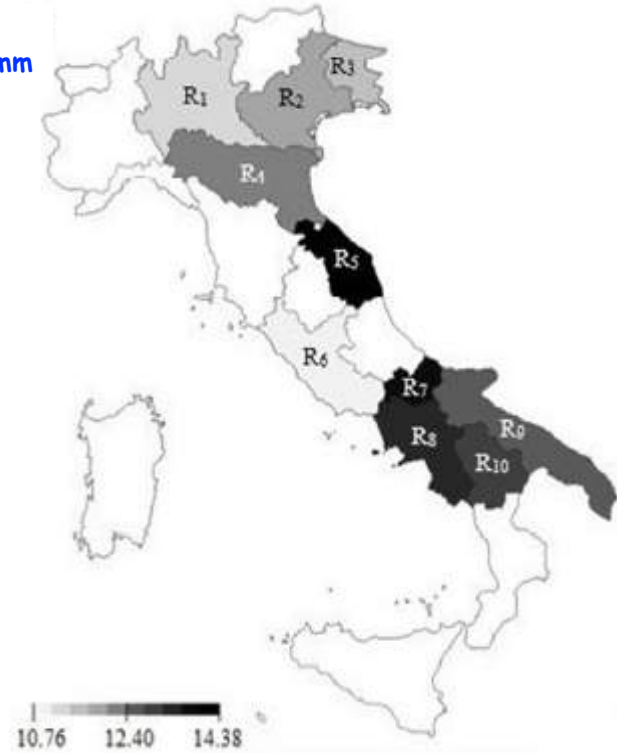
(De Marchi et al., 2017; Benedet et al., 2018)

Medie stimate del tempo di coagulazione (RCT, min) e della consistenza del coagulo (a_{30} , mm) dei campioni di latte di massa nelle diverse regioni

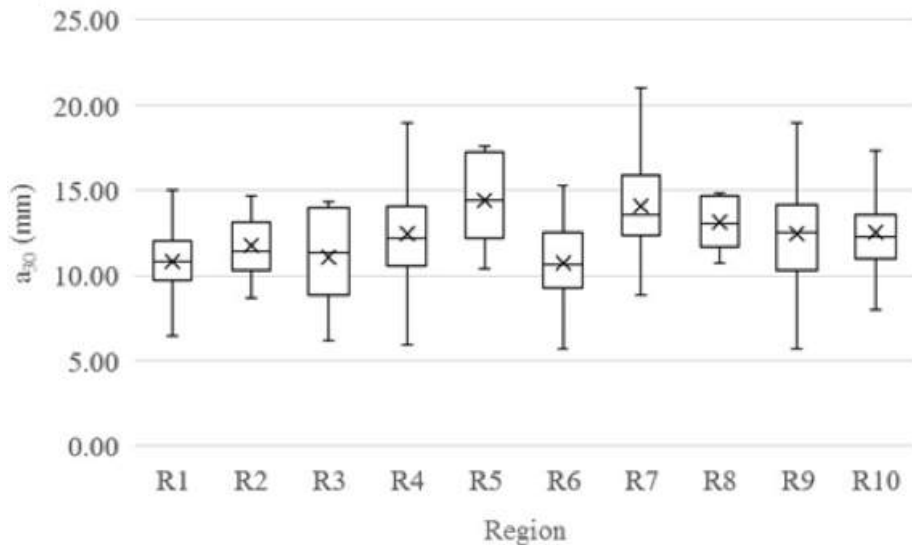
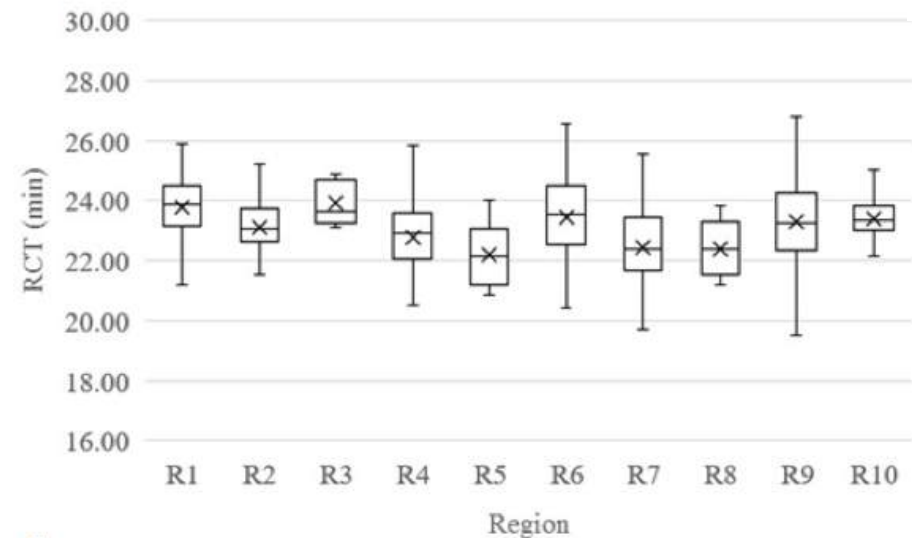
RCT, min



a_{30} , mm

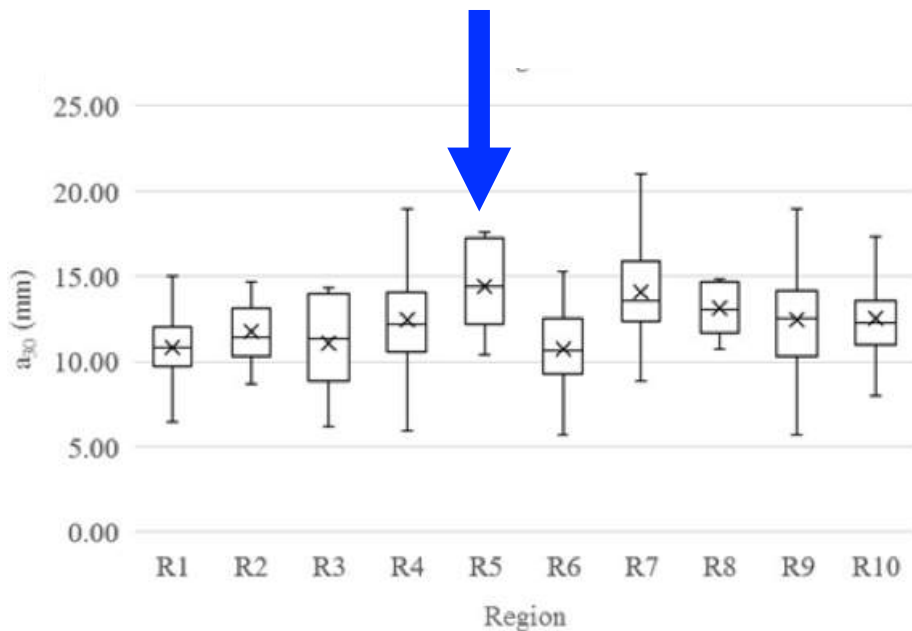
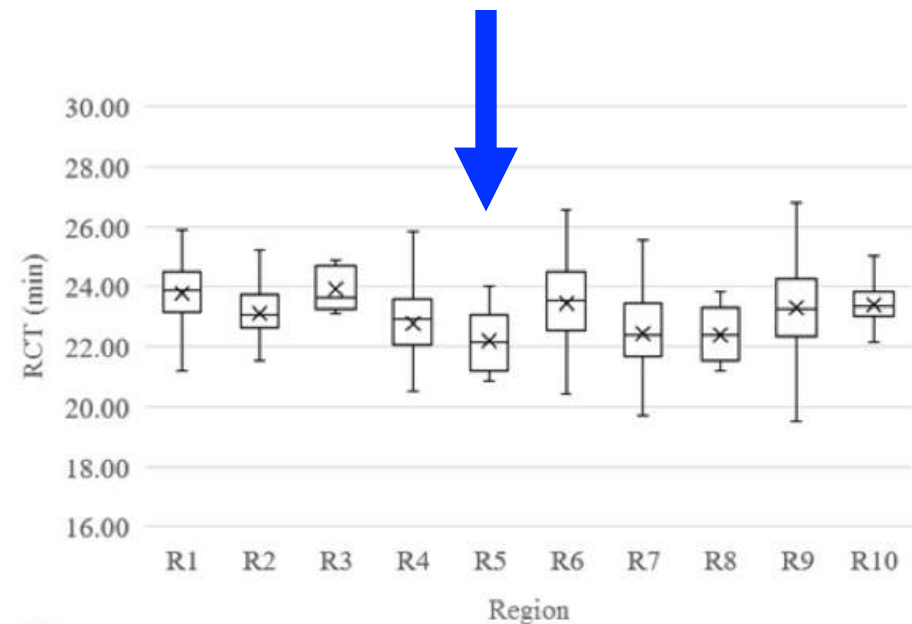


Medie stimate del tempo di coagulazione (RCT, min) e della consistenza del coagulo (a_{30} , mm) dei campioni di latte di massa delle aziende entro regione



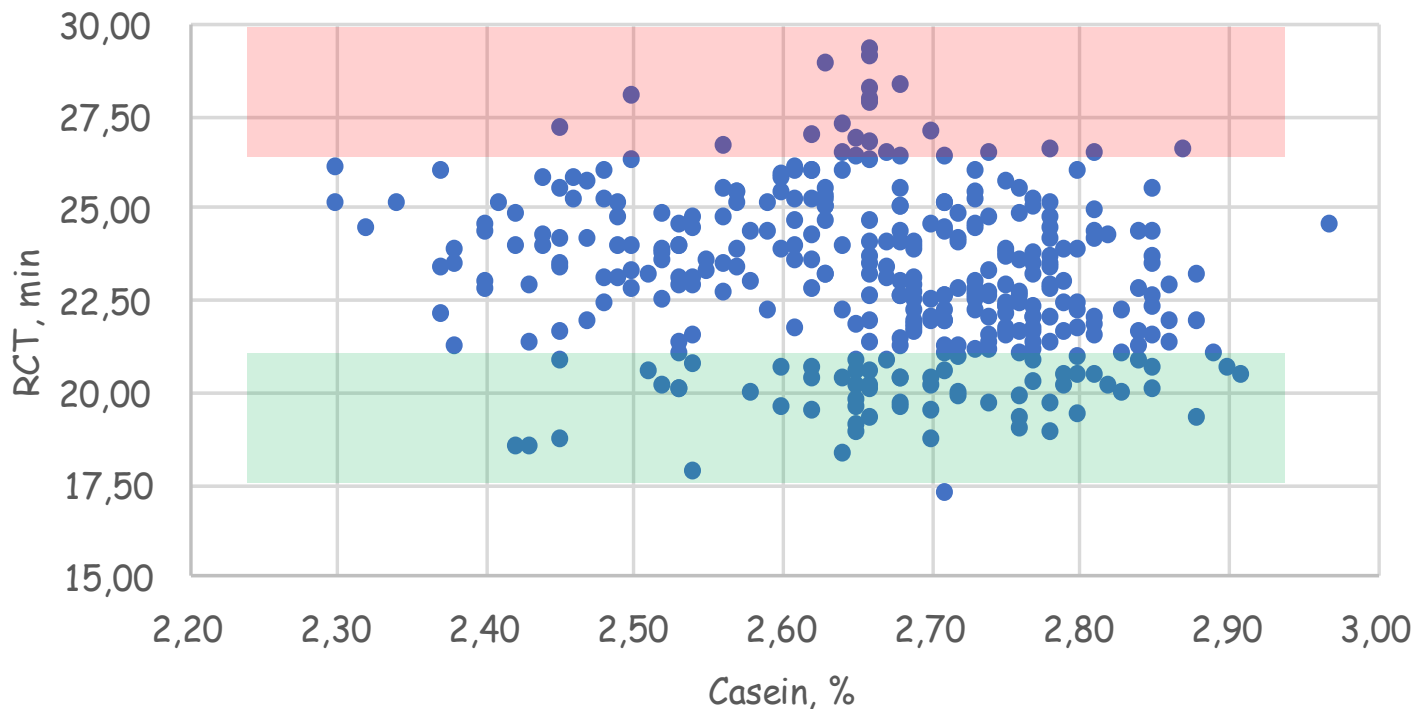
Il "box" rappresenta lo scarto interquartile, la linea entro il box è la mediana, i "baffi" sono il range e la "x" è la media.

Medie stimate del tempo di coagulazione (RCT, min) e della consistenza del coagulo (a_{30} , mm) dei campioni di latte di massa delle aziende entro regione



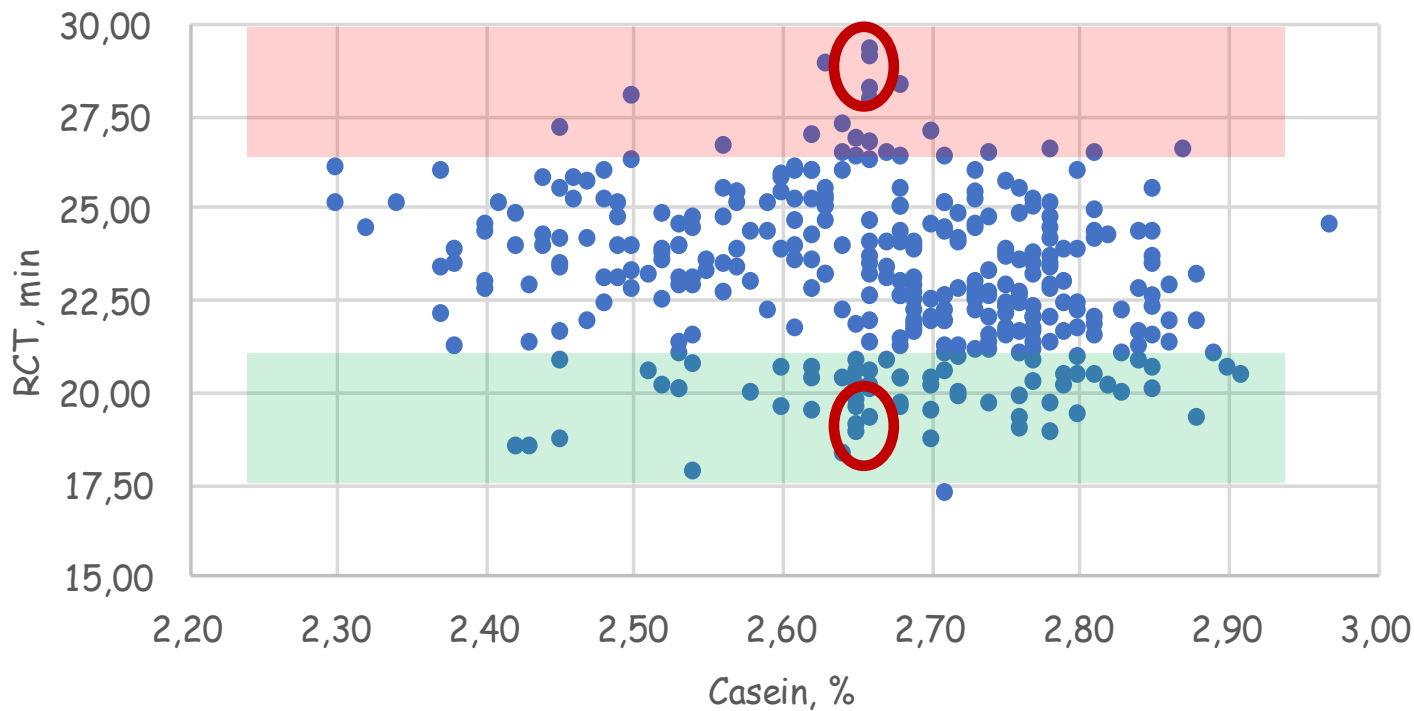
Il "box" rappresenta lo scarto interquartile, la linea entro il box è la mediana, i "baffi" sono il range e la "x" è la media.

Plot del tempo di coagulazione (RCT, min) vs. il contenuto di caseina degli allevamenti di una regione

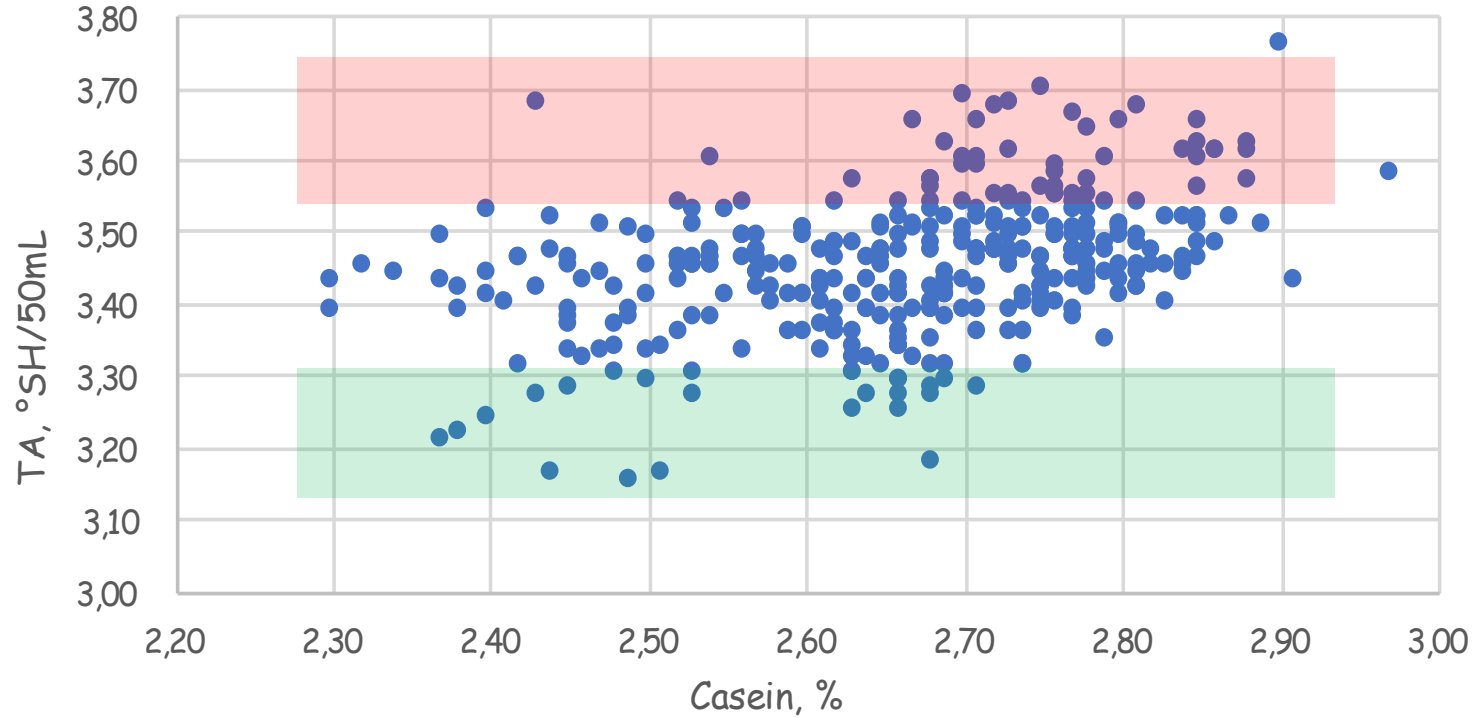


(De Marchi et al., 2017; Benedet et al., 2018)

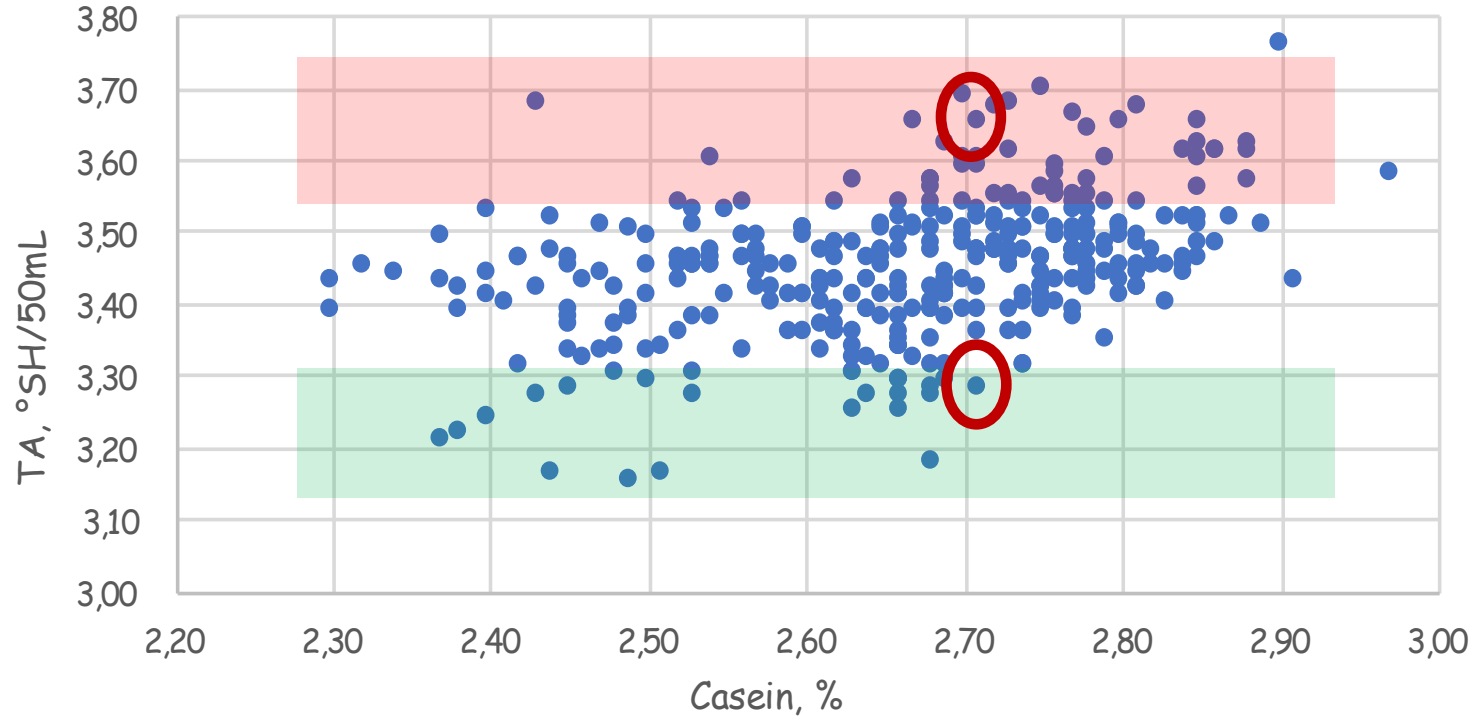
Plot del tempo di coagulazione (RCT, min) vs. il contenuto di caseina degli allevamenti di una regione



Plot dell'acidità titolabile (TA, °SH/50 mL) vs. il contenuto di caseina degli allevamenti di una regione



Plot dell'acidità titolabile (TA, °SH/50 mL) vs. il contenuto di caseina degli allevamenti di una regione



Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia



J. Dairy Sci. 101:934–943

<https://doi.org/10.3168/jds.2017-12717>

© American Dairy Science Association®, 2018.

Factors associated with herd bulk milk composition and technological traits in the Italian dairy industry

A. Benedet,* C. L. Manuelian,* M. Penasa,* M. Cassandro,* F. Righi,† M. Sternieri,‡ P. Galimberti,‡
A. V. Zambrini,‡ and M. De Marchi*¹

*Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment, University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

†Department of Veterinary Science, University of Parma, Via del Taglio 10, 43126 Parma, Italy

‡Granarolo S.p.A., Via Cadriano 27/2, 40127 Bologna, Italy

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate sources of variation of milk composition and technological characteristics routinely collected in field conditions in the Italian dairy industry. A total of 40,896 bulk milk records from 620 herds and 10 regions across Italy were analyzed. Composition traits were fat, protein, and casein percentages, urea content, and somatic cell score; and technological characteristics were rennet co-

INTRODUCTION

Cheese production and export are constantly increasing in Europe (ISMEA, 2016) and Italy is one of the most important European producers, with about 1.2×10^6 t of cheese produced in 2013 (Pieri, 2014). About 75% of milk is used for cheese making, 50% of which is destined to manufacture Protected Designation of Origin (PDO) products. The contribution of the dairy sector to food industry income is about 11% count-

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione Composizione Proteica Siero

Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino

• Predizione Proteine



J. Dairy Sci. 99:1853–1858

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-10318>

© American Dairy Science Association®, 2016.

Short communication: Selecting the most informative mid-infrared spectra wavenumbers to improve the accuracy of prediction models for detailed milk protein content

G. Niero,¹ M. Penasa, P. Gottardo, M. Cassandro, and M. De Marchi

Department of Agronomy, Food, Natural resources, Animals and Environment, University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the ability of mid-infrared spectroscopy (MIRS) to predict protein fraction contents of bovine milk samples by applying uninformative variable elimination (UVE) procedure to select the most informative wavenumber variables before partial least squares (PLS) analysis. Reference values (n = 114) of protein fractions were measured using reversed-phase HPLC and spectra were acquired through MilkoScan FT6000 (Foss Electric A/S, Hillerød, Denmark). Prediction models were built

classified as high-quality compounds in relation to human AA requirements, digestibility, and bioavailability (Pereira, 2014). It has been widely demonstrated that milk proteins have positive effect on consumer health due to their biological activity. In particular, milk proteins and several peptides derived from their enzymatic hydrolysis and metabolic processing have shown antibacterial, antiviral, antifungal, and antioxidant activity, both in vivo and in vitro (Mills et al., 2011; Niero et al., 2015). Moreover, adequate milk protein, calcium, and vitamin D intake results in decreased bone remodeling, better calcium retention, and decreased age-related

- Holstein-Friesian (n = 63), Brown Swiss (n = 26) e Jersey (n = 25)
- Ordine di parto da 1 a 7
- Giorni di lattazione da 7 a 408
- Analisi di riferimento: HPLC (Agilent 1260)
- MilkoScan FT6000
- Leave one out cross validation

Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino

- Predizione Proteine

Table 2. Fitting statistics¹ of mid-infrared prediction models developed using partial least squares (PLS) regression before and after uninformative variable elimination (UVE) procedure applied to milk protein fraction contents and total protein (mg/mL)

Trait ²	#PC	PLS before UVE				PLS after UVE			
		N ₁	RMSE _{CV}	1 - VR	RPD	N ₂	RMSE _{CV}	1 - VR	RPD
Casein fraction									
α-CN	13	865	1.23	0.83	2.43	315	1.05	0.88	2.86
β-CN	13	865	1.95	0.36	1.25	110	1.53	0.60	1.60
κ-CN	13	865	1.05	0.66	1.71	120	0.88	0.74	2.03
TCN	10	865	3.05	0.77	2.09	390	2.51	0.88	2.55
Whey protein fraction									
α-LA	9	865	1.11	0.31	1.20	167	0.10	0.37	1.30
β-LG	15	865	1.21	0.31	1.12	190	1.10	0.47	1.34
TWP	20	865	1.06	0.53	1.41	150	0.88	0.69	1.70
TP	10	865	2.62	0.78	2.13	350	2.10	0.88	3.15

¹#PC = number of principal components; N₁ = number of wavenumbers before UVE procedure; N₂ = number of wavenumbers after UVE procedure; RMSE_{CV} = root mean square error in cross-validation; 1 - VR = coefficient of determination in cross-validation; RPD = ratio performance deviation, calculated by dividing the standard deviation of reversed-phase HPLC reference values to the RMSE_{CV}.

²TCN = total casein (the sum of α-CN, β-CN, and κ-CN); TWP = total whey protein (the sum of α-LA and β-LG); TP = total protein (the sum of TCN and TWP).

Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino

• Predizione Minerali



J. Dairy Sci. 99:8137–8145
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11053>
© American Dairy Science Association®, 2016.

Predictive ability of mid-infrared spectroscopy for major mineral composition and coagulation traits of bovine milk by using the uninformative variable selection algorithm

G. Visentin,¹ M. Penasa, P. Gottardo, M. Cassandro, and M. De Marchi

Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

ABSTRACT

Milk minerals and coagulation properties are important for both consumers and processors, and they can aid in increasing milk added value. However, large-scale monitoring of these traits is hampered by expensive and time-consuming reference analyses. The objective of the present study was to develop prediction models for major mineral contents (Ca, K, Mg, Na, and P) and milk coagulation properties (MCP: rennet coagulation time, curd-firming time, and curd firmness) using mid-infrared spectroscopy. Individual milk samples ($n = 923$) of Holstein-Friesian, Brown Swiss, Alpine Grey, and Simmental cows were collected from single-breed herds between January and December 2014. Reference analysis for the determination of both mineral contents and MCP was undertaken with standardized

ity of an equation, suggested that the developed models might be effective for screening and collection of milk minerals and coagulation properties at the population level. Although prediction equations were not accurate enough to be proposed for analytic purposes, mid-infrared spectroscopy predictions could be evaluated as phenotypic information to genetically improve milk minerals and MCP on a large scale.

Key words: mid-infrared spectroscopy, dairy cattle, milk mineral, milk coagulation property

INTRODUCTION

Milk quality is crucial to maximize milk's added value and it contributes to increase the profitability of the entire dairy chain. Traditional quality traits have mainly

- Holstein-Friesian ($n = 237$), Brown Swiss ($n = 223$), Grigia Alpina ($n = 223$) e Pezzata Rossa ($n = 240$)
- Analisi di riferimento ICP (Ciros Vision EOP)
- MilkoScan FT6000
- Validazione esterna

Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino

- Predizione Minerali

Table 2. Average fitting statistics¹ of prediction models for milk mineral composition and milk coagulation properties in leave-one-out cross-validation obtained from partial least squares (PLS) regression only and from PLS after uninformative variable elimination (UVE-PLS) procedure

Trait ²	#L	PLS			N ₂	UVE-PLS		
		N ₁	RMSE _{CV}	R ² _{CV} (SD)		RMSE _{CV}	R ² _{CV} (SD)	RPD
Mineral composition, mg/kg								
Ca	15	873	146.20	0.60 (0.08)	113	120.00	0.68 (0.06)	1.91
K	15	873	139.11	0.60 (0.05)	173	120.00	0.69 (0.05)	1.90
Mg	20	873	15.62	0.61 (0.05)	93	12.30	0.65 (0.05)	1.80
Na	15	873	90.03	0.29 (0.06)	341	68.80	0.42 (0.08)	1.34
P	20	873	109.77	0.62 (0.07)	210	83.90	0.71 (0.08)	2.16
Coagulation trait								
RCT, min	20	873	3.38	0.46 (0.03)	163	2.86	0.55 (0.03)	1.61
k ₂₀ , min	20	873	1.18	0.46 (0.03)	144	1.00	0.59 (0.03)	1.63
a ₃₀ , mm	20	873	9.26	0.48 (0.05)	110	8.43	0.56 (0.05)	1.47

¹#L = number of model PLS factors; N₁ = number of wavenumbers in PLS regression; RMSE_{CV} = root mean square error in cross validation; R²_{CV} = coefficient of determination in cross-validation; N₂ = number of wavenumbers in PLS regression after UVE procedure; RPD = ratio of prediction to deviation.

²RCT = rennet coagulation time; k₂₀ = curd-firming time; a₃₀ = curd firmness 30 min after rennet addition.

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione Composizione Proteica Siero

Predizione MCP e TA - Latte Bufalino



J. Dairy Sci. 100:7083–7087

<https://doi.org/10.3168/jds.2017-12707>

© American Dairy Science Association®, 2017.

Short communication: Prediction of milk coagulation and acidity traits in Mediterranean buffalo milk using Fourier-transform mid-infrared spectroscopy

C. L. Manuelian,* G. Visentin,* C. Boselli,† G. Giangolini,† M. Cassandro,* and M. De Marchi*¹

*Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

†Experimental Zooprophyllactic Institute Lazio and Toscana "Mariano Aleandri," Via Appia Nuova 1411, 00178 Rome, Italy

ABSTRACT

Milk coagulation and acidity traits are important factors to inform the cheesemaking process. Those traits have been deeply studied in bovine milk, whereas scarce information is available for buffalo milk. However, the dairy industry is interested in a method to determine milk coagulation and acidity features quickly and in a cost-effective manner, which could be provided by Fourier-transform mid-infrared (FT-MIR) spectroscopy. The aim of this study was to evaluate the potential of FT-MIR to predict coagulation and acidity traits

external validation were 0.76 and 0.66 for pH and TA, respectively. Canonical discriminant analysis indicated that information on milk coagulating ability is present in the MIR spectra, and the model correctly classified as noncoagulating the 91.57 and 67.86% of milk samples in the calibration and validation sets, respectively. In conclusion, our results can be relevant to the dairy industry to classify buffalo milk samples before processing.

Key words: buffalo cheese, mid-infrared spectrometry, milk coagulation property, milk quality

- Bufale (n = 654)
- Allevamenti (n = 36)

- Analisi di riferimento MCP (Formagraph) e TA (Crison Compact D meter)

- MilkoScan FT6000

- Validazione esterna

Predizione MCP e TA - Latte Bufalino

Table 2. Fitting statistics¹ of prediction models for technological traits (mean of 4 iterations) for Mediterranean buffalo milk using Fourier-transform mid-infrared (FT-MIR) spectroscopy¹

Trait ²	Calibration set			Validation set				
	#L	SEP _{CV}	R ² _{CV}	Bias	Slope (SE)	SEP _{ExV}	R ² _{ExV}	RPD
RCT, min	14	4.54	0.45	-0.006	0.38 (0.05)	5.17	0.31	1.19
k ₂₀ , min	15	0.97	0.39	0.005	0.33 (0.05)	1.06	0.27	1.17
a ₃₀ , mm	17	10.38	0.51	0.131	0.45 (0.05)	12.43	0.35	1.20
pH	14	0.09	0.80	0.003	0.78 (0.04)	0.10	0.76	2.08
TA, SH°/100 mL	18	0.64	0.73	-0.023	0.69 (0.04)	0.72	0.66	1.71

¹#L = optimal number of models factors; SEP_{CV} = standard error of prediction of cross-validation; R²_{CV} = coefficient of determination of cross-validation; SEP_{ExV} = standard error of prediction of external validation; R²_{ExV} = coefficient of determination of external validation; RPD = ratio of prediction to deviation calculated as the ratio between the standard deviation of the trait and the SEP_{ExV}.

²RCT = rennet coagulation time; k₂₀ = curd firming time; a₃₀ = curd firmness 30 min after rennet addition to milk; TA = titratable acidity; SH° = Soxhlet-Henkel degree.

Predizione MCP e TA - Latte Bufalino

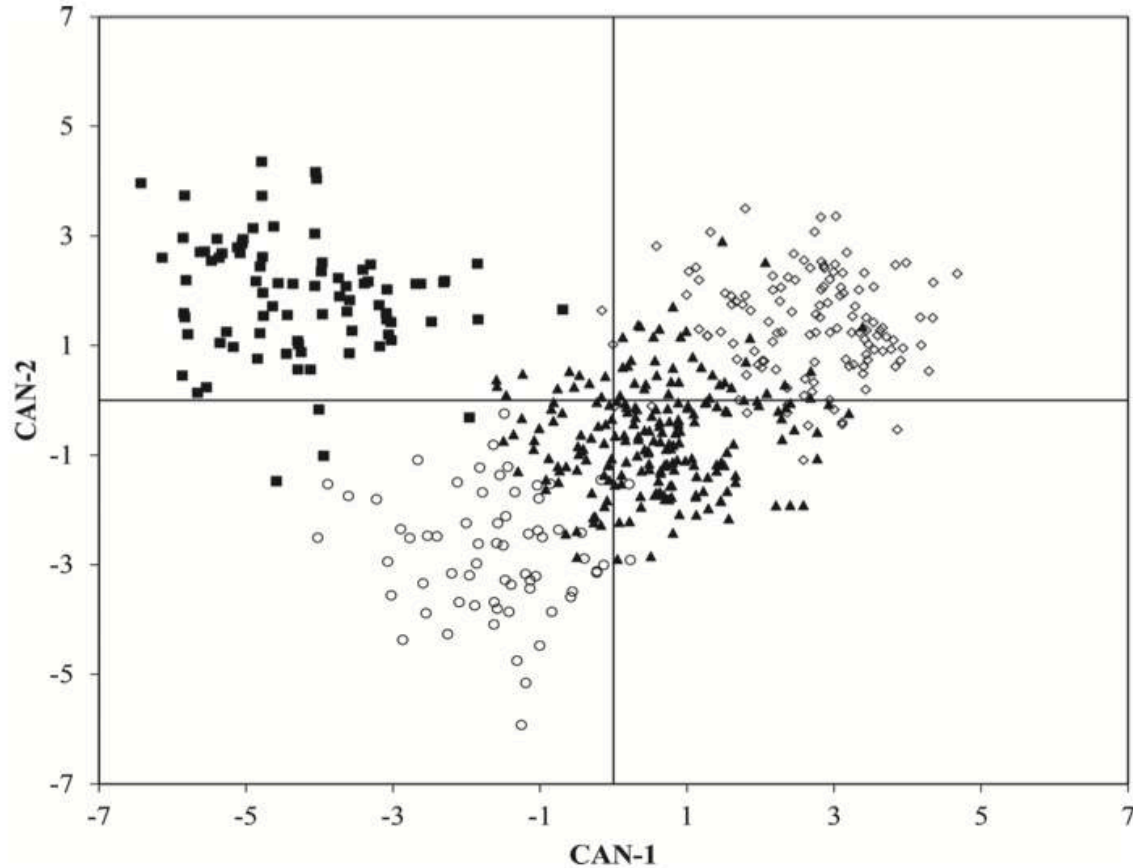


Figure 1. Scatter plot of the first canonical (CAN) variable (x-axis) versus the second canonical variable (y-axis) in early coagulating [i.e., rennet coagulation time (RCT) <10 min] milk samples (◇), mid-coagulating (i.e., 10 min ≤ RCT ≤ 20 min) milk samples (▲), late-coagulating (i.e., 20 min < RCT ≤ 30 min) milk samples (○), and noncoagulating (i.e., RCT >30 min) milk samples (■).

Predizione MCP e TA - Latte Bufalino

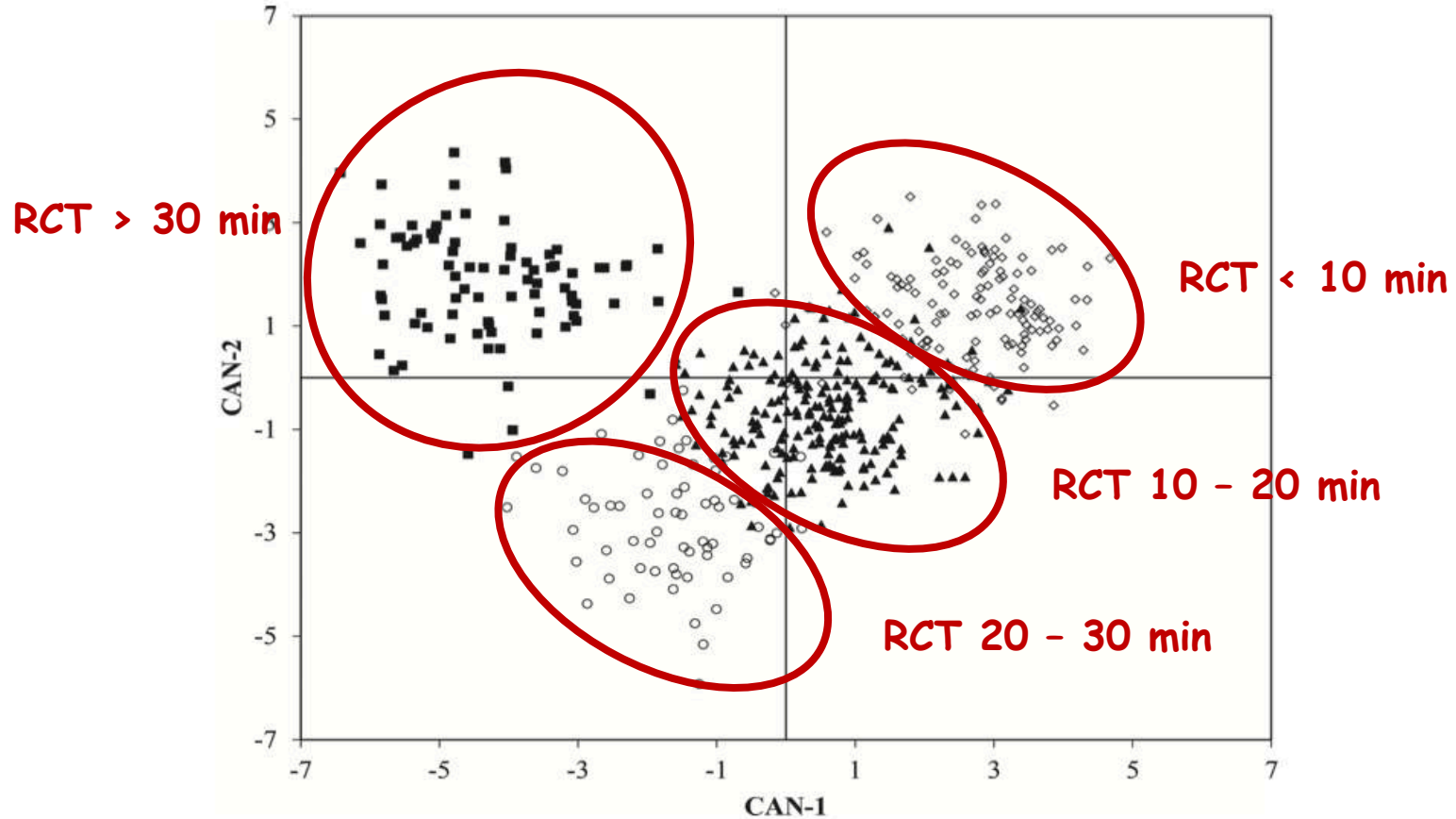


Figure 1. Scatter plot of the first canonical (CAN) variable (x-axis) versus the second canonical variable (y-axis) in early coagulating [i.e., rennet coagulation time (RCT) <10 min] milk samples (◇), mid-coagulating (i.e., 10 min ≤ RCT ≤ 20 min) milk samples (▲), late-coagulating (i.e., 20 min < RCT ≤ 30 min) milk samples (○), and noncoagulating (i.e., RCT >30 min) milk samples (■).

Applicazioni "recenti" FTIR

- Predizione MCP e TA - Latte di Massa in Italia
- Predizione Sali minerali e Proteine - Latte Vaccino
- Predizione MCP e TA - Latte Bufalino
- Predizione Composizione Proteica Siero

Predizione composizione Proteica - Siero



J. Dairy Sci. 99:68–76

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-9077>

© American Dairy Science Association®, 2016.

Quantification of whey proteins by reversed phase-HPLC and effectiveness of mid-infrared spectroscopy for their rapid prediction in sweet whey

Alba Sturaro, Massimo De Marchi,¹ Antonio Masi, and Martino Cassandro

Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals, and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

ABSTRACT

In the dairy industry, membrane filtration is used to reduce the amount of whey waste and, simultaneously, to recover whey proteins (WP). The composition of WP can strongly affect the filtration treatment of whey, and rapid determination of WP fractions would be of interest for dairy producers to monitor WP recovery. This study aimed to develop mid-infrared spectroscopy (MIRS) prediction models for the rapid quantification of protein in sweet whey, using a validated rapid reversed phase (RP)-HPLC as a reference method. Quantified WP included α -lactalbumin (α -LA), β -lactoglobulin (β -LG) A and B, bovine serum albumin, caseinomacropetides, and proteose peptone. Validation of RP-HPLC was performed by calculating the relative standard deviation (RSD) in repeatability and reproducibility tests for WP retention time and peak areas. Samples of liquid whey ($n = 187$) were analyzed by RP-HPLC and scanned through MIRS to collect spectral information (900 to 4000 cm^{-1}), sta-

Key words: whey protein quantification, mid-infrared spectroscopy, reversed phase (RP)-HPLC

INTRODUCTION

The increasing consumer demand for products with healthy and high nutritional properties has led the dairy industry to recognize the value of whey proteins (WP; Smithers, 2008). Whey proteins can be incorporated in several food products to maintain the functional and nutritional value (Lo and Bastian, 1998). Recently, dairy producers have exploited different processes for whey treatments to recycle WP (Prazeres et al., 2012). Ultrafiltration of whey is one of the most important applications to recover WP and produce WP concentrate (WPC; Singer et al., 1990). The main WP involved are β -LG (β -LG_A and β -LG_B) and α -LA; other minor WP are BSA, various peptides such as caseinomacropetide (CMP) formed by chymosin cleavage of κ -casein, and proteose peptone (PP) re-

- Siero da caseificazione di latte pastorizzato ($n = 187$)
- Analisi di riferimento RH-HPLC
- MilkoScan FT2
- Cross-validation

Predizione composizione Proteica - Siero

Table 4. Statistics of prediction models¹ for whey protein composition (mg/mL) by mid-infrared spectroscopy (900–4,000 cm⁻¹)

Protein ²	Math ³	Terms ⁴	R ²	SEC	1 – VR	SE _{CV}	RPD
α-LA	SNV 0,0,1,1	6	0.64	0.07	0.56	0.07	1.51
β-LG	None 0,0,1,1	5	0.65	0.50	0.58	0.56	1.54
β-LG _A	None 0,0,1,1	5	0.66	0.36	0.60	0.39	1.61
β-LG _B	SNV 0,0,1,1	4	0.47	0.18	0.33	0.20	1.22
BSA	SNV + D 0,0,1,1	4	0.70	0.02	0.66	0.02	1.70
Caseinomacropetides	None 0,0,1,1	9	0.65	0.08	0.55	0.10	1.48
Proteose peptone	None 0,0,1,1	5	0.56	0.04	0.50	0.04	1.43
Total identified	SNV + D 0,0,1,1	8	0.66	0.66	0.58	0.74	1.54

¹SEC = standard error of calibration; 1 – VR = coefficient of determination of cross-validation; SE_{CV} = standard error of cross-validation; RPD = ratio performance deviation calculated as SD/SE_{CV}.

²Total = α-LA + β-LG + BSA + caseinomacropetides + proteose peptone.

³SNV = standard normal variate; D = detrending. The first digit of the mathematical treatment refers to the derivative number (0 = no derivative; 1 = first derivative), the second number is the gap over which the derivative is calculated, the third is the length of segment smoothed, and the fourth is the second smoothing segment.

⁴Number of modified partial least squares factors used in calibration.

Sommario

1. FTIR ieri, oggi e domani



2. Applicazioni "recenti" FTIR



3. Applicazioni "recenti" NIRS

4. Conclusioni - Prospettive

Applicazioni "recenti" NIRS

- Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo
- Predizione Na, P, Mg, K, Ca - Stracchino e Mozzarella
- Predizione indice di maturazione
- Predizione fibra digeribile e indigeribile feci
- Predizione Acidi Grassi e Sali Minerali - processed meat
- Predizione parametri qualità Pet Food

Applicazioni "recenti" NIRS

- Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo
- Predizione Na, P, Mg, K, Ca - Stracchino e Mozzarella
- Predizione indice di maturazione
- Predizione fibra digeribile e indigeribile feci
- Predizione Acidi Grassi e Sali Minerali - processed meat
- Predizione parametri qualità Pet Food

Applicazioni "recenti" NIRS

- Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo
- Predizione indice di maturazione

Applicazioni "recenti" NIRS

- Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo
- Predizione indice di maturazione

Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo

International Dairy Journal 71 (2017) 107–113



Contents lists available at ScienceDirect

International Dairy Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/idaairyj



Prediction of minerals, fatty acid composition and cholesterol content of commercial cheeses by near infrared transmittance spectroscopy



Carmen L. Manuelian, Sarah Currò, Mauro Penasa, Martino Cassandro, Massimo De Marchi*

Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro, PD, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 November 2016

Received in revised form

22 March 2017

Accepted 23 March 2017

Available online 2 April 2017

ABSTRACT

Prediction models for the mineral, fatty acid (FA) and cholesterol contents of commercial European cheeses using near infrared transmittance spectroscopy were developed. Cheese samples ($n = 145$) were from different dairy species and ripening time. Sample spectra were matched with mineral, FA and cholesterol reference data to develop prediction models. Modified partial least squares regressions were validated through cross-validation procedure on the complete dataset ($n = 145$) and through external validation after dividing the data into calibration (74%) and external validation (26%) sets. Satisfactory models were developed for Ca, P, S, Mg and Zn, and for FA groups (saturated, unsaturated, mono-unsaturated and polyunsaturated FAs), major FAs (myristic, palmitic and oleic acids) and some minor FAs, whereas cholesterol content could not be predicted with adequate accuracy. Results of the present study are a precursor to at-line utilisation of prediction models for the most abundant cheese minerals and FAs at an industry level.

- Totale ($n = 145$)
- Analisi di riferimento acidi grassi: ASE e GC
- Analisi di riferimento Sali minerali: ICP
- Analisi di riferimento colesterolo: capillary column GC system
- FOODSCAN
- Leave one out cross validation

Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo

Table 1

Description of characteristics of commercial cheeses and cheese-making technologies.^a

Cheese type	Species	Country	Milk	Milk fat	Ripening (months)	Texture
Asiago PDO	C	IT	RP	YN	0.7–24	H, SH
Brie	C, S	FR	R	YN	1–1.7	S
Casatella PDO	C	IT	P	Y	0.1–0.3	S
Cheddar	C	UK	P	Y	9–24	H, SH
Emmentaler PDO	C	CH	R	Y	4–12	SH
Feta PDO	C, G, S	GR	RP	Y	<2	S
Fontina PDO	C	IT	R	Y	3	SH
Robiola Goat	C, G, S	IT	RP	Y	0.3–1.3	S
Gorgonzola PDO	C	IT	P	Y	3–6	S
Grana Padano PDO	C	IT	R	N	9–20	H
Maasdam	C	NL	P	Y	4–12	SH
Montasio PDO	C	IT	R	N	2–6	H
Mozzarella PDO/TSG	B, C	IT	P	Y	—	S
Parmigiano Reggiano PDO	C	IT	R	N	12–24	H
Piave PDO	C	IT	P	Y	0.7–18	H
Provolone PDO	C	IT	RP	Y	0.3–9	SH
Pecorino	S	IT	RP	Y	0.7–12	H, SH
Spun Paste	C	IT	P	Y	—	S
Taleggio PDO	C	IT	P	Y	≥1.2	S

^a Abbreviations are: PDO, Protected Denomination of Origin; TSG, Traditional Specialities Guaranteed; B, water buffalo; C, cow; G, goat; S, sheep; IT, Italy; FR, France; UK, United Kingdom; CH, Switzerland; GR, Greece; NL, the Netherlands; R, raw milk; P, pasteurised milk; RP, raw or pasteurised milk; Y, whole milk; N, partially skimmed milk; YN, whole milk or/and partially skimmed milk; H, hard; SH, semi-hard; S, soft.

- Totale (n = 145)
- Analisi di riferimento acidi grassi: ASE e GC
- Analisi di riferimento Sali minerali: ICP
- Analisi di riferimento colesterolo: capillary column GC system
- FOODSCAN
- Leave one out cross validation

Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo

Table 2

Calibration and cross-validation statistics for modified partial least squares regression models developed to predict minerals content of commercial cheeses.²

Trait	Math	N	Mean	SD	LF	SEC	R ²	SE _{CV}	R ² _{CV}	RPD _{CV}
Major minerals (mg g ⁻¹)										
Ca	D(1441)	135	5.53	2.41	8	0.50	0.96	0.53	0.95	4.57
Na	MSC(2551)	134	4.71	2.07	10	0.59	0.92	0.63	0.91	3.28
P	SNV(0011)	137	3.38	1.16	8	0.26	0.95	0.29	0.94	4.02
S	SNV(2551)	134	1.16	0.32	9	0.07	0.95	0.08	0.94	4.22
K	NONE(2551)	139	1.31	0.52	10	0.24	0.79	0.26	0.74	1.97
Mg	NONE(0011)	124	0.19	0.08	7	0.02	0.93	0.02	0.93	3.71
Trace elements (µg g ⁻¹)										
Zn	MSC(0011)	136	24.17	9.12	8	2.19	0.94	2.34	0.93	3.90
Fe	SNV(1441)	140	1.47	0.84	7	0.64	0.41	0.70	0.30	1.20
Se	MSC(2551)	142	0.80	0.15	1	0.15	0.09	0.15	0.05	1.01
Cu	MSC(2551)	126	1.02	1.96	10	0.70	0.87	0.82	0.82	2.38

² Abbreviations are: Math, mathematical treatment; D, detrend; MSC, multiplicative scatter correction; SNV, standard normal variate; NONE, no correction; N, number of samples used to develop the model; SD, standard deviation of reference data; LF, number of latent factors selected; SEC, standard error of calibration; R², coefficient of determination of calibration; SE_{CV}, standard error of cross-validation; R²_{CV}, coefficient of determination of cross-validation; RPD_{CV}, residual predictive deviation of cross-validation calculated as the ratio of SD in SE_{CV}.

Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo

Table 3

Calibration and cross-validation statistics for modified partial least squares regression models developed to predict absolute concentration of fatty acids (FAs) (g 100 g⁻¹ cheese) and cholesterol content of commercial cheeses (g 100 g⁻¹ cheese).^a

Trait	Math	N	Mean	SD	LF	SEC	R ²	SE _{CV}	R ² _{CV}	RPD _{CV}
FA groups										
SFA	MSC(1441)	123	17.01	3.50	10	0.61	0.97	0.67	0.96	5.25
UFA	SNV(1441)	130	8.31	1.85	10	0.40	0.95	0.43	0.95	4.30
MUFA	MSC(1441)	128	7.08	1.55	10	0.36	0.95	0.39	0.94	4.03
PUFA	MSC(2551)	130	1.23	0.37	7	0.12	0.90	0.12	0.89	3.00
CLA	SNV + D(1441)	122	0.20	0.06	10	0.04	0.67	0.04	0.65	1.67
ω-3	SNV(2551)	127	0.21	0.08	9	0.03	0.81	0.04	0.78	2.14
ω-6	MSC(2551)	130	0.70	0.21	9	0.09	0.83	0.09	0.80	2.25
Major FAs										
C14:0	MSC(1441)	125	2.68	0.59	10	0.14	0.95	0.14	0.94	4.11
C16:0	SNV(1441)	128	7.47	1.58	9	0.39	0.94	0.41	0.93	3.83
C18:0	MSC(0011)	136	2.64	0.58	10	0.21	0.88	0.23	0.85	2.57
C18:1n9	NONE(1441)	127	5.10	1.10	10	0.29	0.93	0.32	0.91	3.30
Minor FAs										
C4:0	D(2551)	131	0.64	0.13	6	0.05	0.87	0.05	0.85	2.62
C6:0	D(0011)	130	0.46	0.09	6	0.03	0.86	0.04	0.85	2.62
C8:0	D(1441)	122	0.30	0.06	6	0.02	0.86	0.03	0.83	2.40
C10:0	SNV(1441)	121	0.70	0.19	10	0.07	0.88	0.07	0.86	2.69
C12:0	SNV + D(0011)	129	0.83	0.21	5	0.09	0.83	0.09	0.82	2.37
C15:0	SNV(1441)	128	0.28	0.07	10	0.02	0.91	0.02	0.90	3.11
C16:1	NONE(1441)	128	0.39	0.09	8	0.03	0.91	0.03	0.89	3.08
C18:2n6	MSC(2551)	131	0.63	0.19	8	0.09	0.77	0.10	0.75	1.99
C20:0	D(1141)	127	0.05	0.01	10	0.01	0.73	0.01	0.68	1.75
Cholesterol	D(1441)	138	0.07	0.02	3	0.01	0.59	0.01	0.57	1.53

^a Abbreviations are: Math, mathematical treatment; D, detrend; MSC, multiplicative scatter correction; SNV, standard normal variate; NONE, no correction; LF, number of samples used to develop the model; SD, standard deviation of reference data; LF, number of latent factors selected; SEC, standard error of calibration; R², coefficient of determination of calibration; SE_{CV}, standard error of cross-validation; R²_{CV}, coefficient of determination of cross-validation; RPD_{CV}, residual predictive deviation of cross-validation calculated as ratio of SD in SE_{CV}.

Applicazioni "recenti" NIRS

- Predizione Acidi Grassi, Sali Minerali e Colesterolo
- Predizione indice di maturazione

Predizione Indice di Maturazione



J. Dairy Sci. 100:8759–8763

<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13001>

© American Dairy Science Association®, 2017.

Technical note: Feasibility of near infrared transmittance spectroscopy to predict cheese ripeness

S. Currò, C. L. Manuelian, M. Penasa, M. Cassandro, and M. De Marchi¹

Department of Agronomy, Food, Natural Resources, Animals and Environment (DAFNAE), University of Padova, Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro (PD), Italy

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the feasibility of near infrared (NIR) transmittance spectroscopy to predict cheese ripeness using the ratio of water-soluble nitrogen (WSN) to total nitrogen (TN) as an index of cheese maturity (WSN/TN). Fifty-two Protected Designation of Origin cow milk cheeses of 5 varieties (Asiago, Grana Padano, Montasio, Parmigiano Reggiano, and Piave) and different ripening times were available for laboratory and chemometric analyses. Reference measures of WSN and TN were matched with cheese spectral information obtained from ground samples by a NIR instrument that operated in transmittance mode from 850 to 1,050 nm. Prediction

most important process (García-Palmer et al., 1997; McSweeney and Fox, 1997), indicating that chemical analysis is useful to assess cheese ripeness.

Cheese proteolysis involves the degradation of caseins, which are insoluble in many solvents, into large, medium-sized, and small peptides and free AA, which are soluble fractions. Consequently, peptides and free AA increase during the ripening period. These soluble fractions are determined through use of different solvents (McSweeney and Fox, 1997; Moatsou et al., 2002; Panari et al., 2003) and they can be used as objective indicators of cheese ripening. Traditionally, the ratio of water-soluble nitrogen (WSN) to total nitrogen (TN) has been adopted as an objective index to evalu-

- Totale (n = 45)
- FOODSCAN
- Leave one out cross validation

Predizione Indice di Maturazione

Table 1. Least squares means \pm SE (g/100 g of cheese) of moisture, fat, protein, and salt contents across Protected Designation of Origin (PDO) cheese variety and ripening time

Item	n	Moisture	Fat	Protein	Salt
PDO cheese variety					
Asiago	8	31.17 \pm 1.60 ^a	35.24 \pm 1.04 ^d	27.30 \pm 0.90 ^a	1.52 \pm 0.11 ^a
Grana Padano	22	35.05 \pm 0.96 ^a	27.53 \pm 0.62 ^a	33.18 \pm 0.54 ^b	1.52 \pm 0.06 ^a
Montasio	7	30.73 \pm 1.71 ^a	35.30 \pm 1.11 ^{cd}	28.11 \pm 0.96 ^a	1.60 \pm 0.11 ^a
Parmigiano Reggiano	7	30.67 \pm 1.71 ^a	30.75 \pm 1.11 ^{abc}	33.77 \pm 0.96 ^b	1.75 \pm 0.11 ^a
Piave	8	30.69 \pm 1.60 ^a	35.05 \pm 1.04 ^{bd}	29.52 \pm 0.90 ^a	1.65 \pm 0.11 ^a
Ripening time, mo					
1 to <3	13	36.89 \pm 1.03 ^c	28.72 \pm 1.21 ^a	29.94 \pm 0.90 ^a	1.41 \pm 0.08 ^a
3 to <12	20	33.39 \pm 0.83 ^b	31.74 \pm 0.98 ^{ac}	29.87 \pm 0.73 ^a	1.59 \pm 0.06 ^{ac}
12 to 40	19	28.86 \pm 0.85 ^a	32.75 \pm 1.00 ^{bc}	33.21 \pm 0.74 ^b	1.70 \pm 0.06 ^{bc}

^{a-d}Means with different letters within trait and item (PDO cheese variety or ripening time) are significantly different ($P < 0.05$).

- Totale (n = 45)
- FOODSCAN
- Leave one out cross validation

Predizione Indice di Maturazione

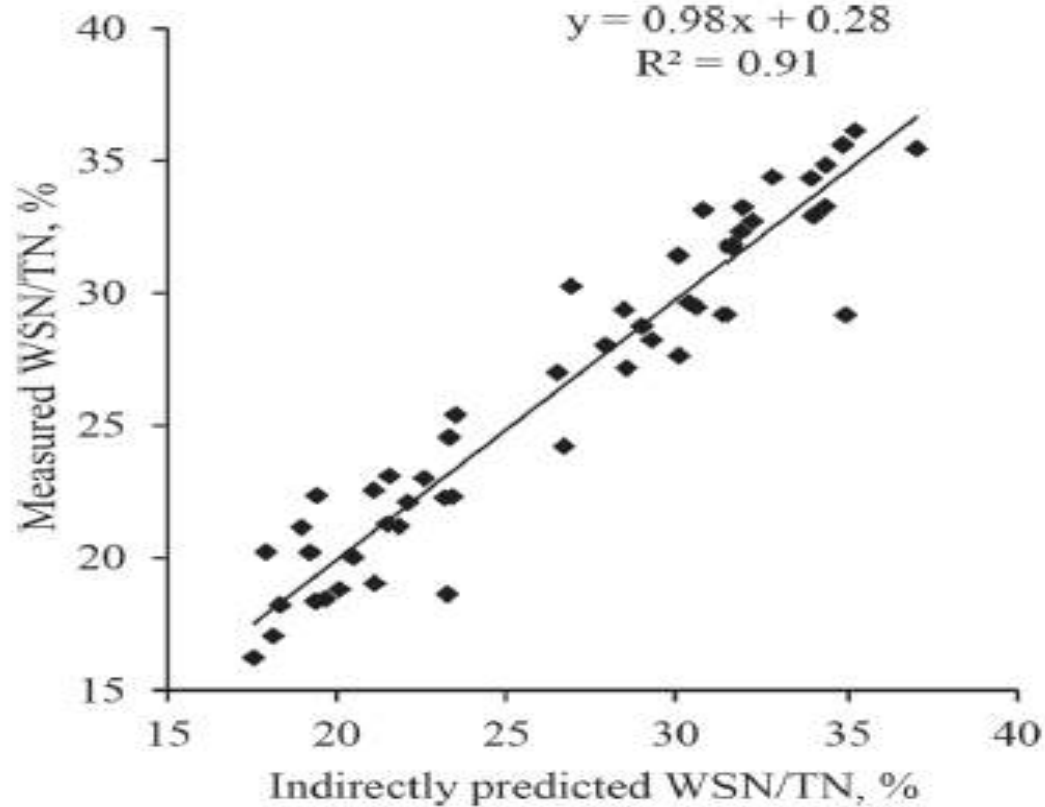


Figure 2. Linear regression plot of measured versus indirectly predicted water-soluble nitrogen to total nitrogen ratio (WSN/TN) in the cross-validation approach (n = 52).

Sommario

1. FTIR ieri, oggi e domani



2. Applicazioni "recenti" FTIR



3. Applicazioni "recenti" NIRS



4. Conclusioni - Prospettive

Conclusioni - Prospettive

- FTIR & NIRS tecnologie "efficaci" nella predizione di composti chimici e fenotipi
- Implementazione in "campo" limitate
- Nuovi caratteri (metodi di riferimento, interpretazione in relazione all'accuratezza e all'utilizzo, divulgazione a caseifici ed allevatori utilizzando nuove modalità)
- Laboratorio (gestione fenotipi e strumenti, gestione qualità dato nel tempo e rapporto con altri laboratori)

Conclusioni - Prospettive

- FTIR & NIRS tecnologie "efficaci" nella predizione di composti chimici e fenotipi
- **Implementazione in "campo" limitate**
- Nuovi caratteri (metodi di riferimento, interpretazione in relazione all'accuratezza e all'utilizzo, divulgazione a caseifici ed allevatori utilizzando nuove modalità)
- Laboratorio (gestione fenotipi e strumenti, gestione qualità dato nel tempo e rapporto con altri laboratori)

Conclusioni - Prospettive

- FTIR & NIRS tecnologie "efficaci" nella predizione di composti chimici e fenotipi
- Implementazione in "campo" limitate
- Nuovi caratteri (metodi di riferimento, interpretazione in relazione all'accuratezza e all'utilizzo, divulgazione a caseifici ed allevatori utilizzando nuove modalità)
- Laboratorio (gestione fenotipi e strumenti, gestione qualità dato nel tempo e rapporto con altri laboratori)

Conclusioni - Prospettive

- FTIR & NIRS tecnologie "efficaci" nella predizione di composti chimici e fenotipi
- Implementazione in "campo" limitate
- Nuovi caratteri (metodi di riferimento, interpretazione in relazione all'accuratezza e all'utilizzo, divulgazione a caseifici ed allevatori utilizzando nuove modalità)
- Laboratorio (gestione fenotipi e strumenti, gestione qualità dato nel tempo e rapporto con altri laboratori)

Conclusioni - Prospettive

- FTIR & NIRS tecnologie "efficaci" nella predizione di composti chimici e fenotipi
- Implementazione in "campo" limitate
- Nuovi caratteri (metodi di riferimento, interpretazione in relazione all'accuratezza e all'utilizzo, divulgazione a caseifici ed allevatori utilizzando nuove modalità)
- Laboratorio (gestione fenotipi e strumenti, gestione qualità dato nel tempo e rapporto con altri laboratori)
- "In mezzo alle difficoltà nascono le opportunità"

Grazie

Massimo De Marchi - massimo.demarchi@unipd.it

2018

ANALYTICA

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma

NORMATIVE, CONTROLLI E RIFERIBILITÀ ANALITICA PER IL GIUDIZIO DI CONFORMITÀ MiPAAF

Fabio Fuselli – ICQRF Laboratorio centrale di Roma

SOMMARIO

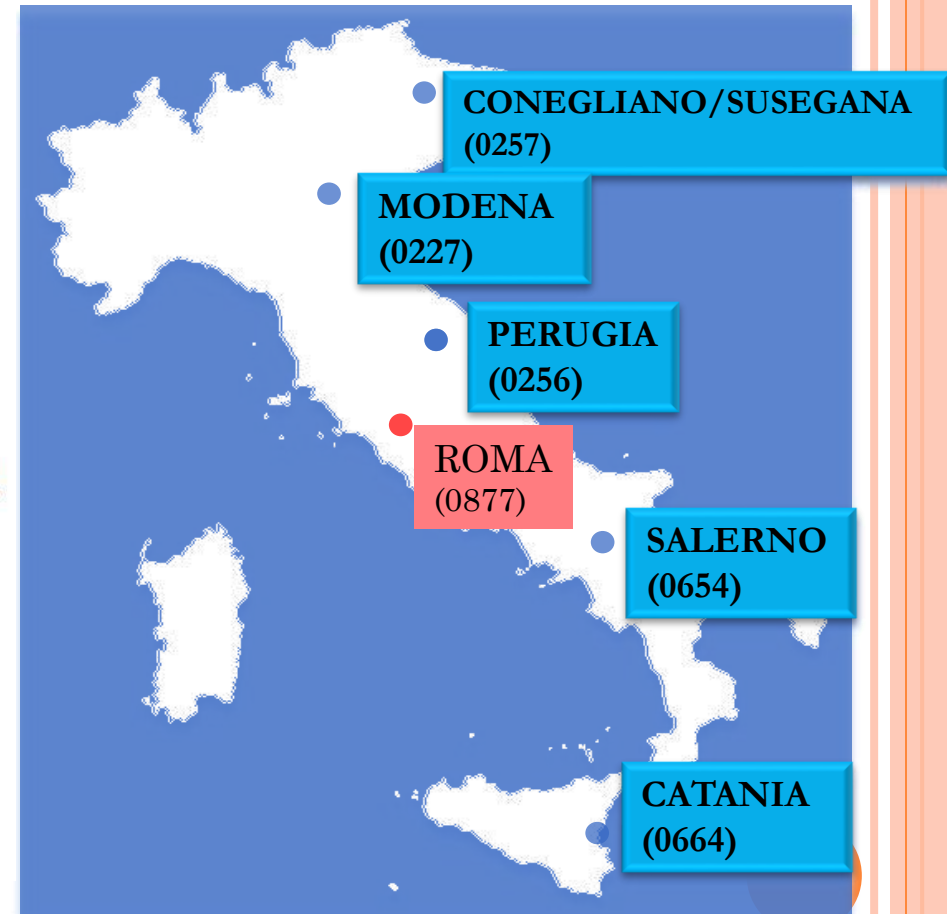
- ICQRF e attività di controllo ufficiale
- Contesto
- Piano naz. Controllo (?)
- Mancanza PT per alcuni parametri latt.-cas.
- Nuovo Reg (UE) 625/2017
- Nuovo reg. “273/2008”
- Conformità al limite (norme ILAC e ISPRA)
- Parametri isotopici e multivariati



L'ICQRF - STRUTTURA

Uffici

Laboratori



ICQRF - LABORATORI

ATTIVITA' ANALITICA:

- di Controllo (istituzionale)
- di Controllo (altri organi)
- Convenzioni con Consorzi (Programmi di vigilanza)
- Convenzioni con altri enti (ad es. Organismi di certificazione)

RICERCA

- Finalizzata alla prevenzione frodi o tutela della qualità
- In autonomia o in collaborazione



ICQRF - TIPOLOGIE DI CONTROLLO

- Prodotti agroalimentari + mezzi tecnici
- Qualità (merceologici) (... no igienico-sanitari)
- Prodotti a DOP, IGP, STG + protezione *ex officio*
- Agricoltura biologica (rispetto disciplinare)
- Food fraud contact point UE (illeciti transnazionali)
- Contrasto criminalità agroalimentare (collab. Procure - UIC)
- Attività controllo *on line*
- (*indiretto*) Riconoscimento, autorizzazione e vigilanza delle strutture di controllo (OdC), privati o pubblici, delle produzioni di qualità regolamentata (DOP, IGP, STG, produzioni biologiche, bevande spiritose, certificazioni volontarie di qualità)



ATTIVITA' DI CONTROLLO 2017

[HTTPS://WWW.POLITICHEAGRICOLE.IT/FLEX/CM/PAGES/SERVEBLOB.PHP/L/IT/IDPAGINA/12201](https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBlob.php/L/IT/IDPAGINA/12201)

Lattiero caseario

Attività di controllo	
Controlli (n.)	3.349
Operatori controllati (n.)	2.429
Operatori irregolari (%)	21,2
Prodotti controllati (n.)	4.703
Prodotti irregolari (%)	13,5
Campioni analizzati (n.)	1.628
Campioni irregolari (%)	5,3

Risultati operativi	
Notizie di reato (n.)	60
Contestazioni amministrative (n.)	217
Sequestri (n.)	29
Quantità prodotti sequestrati (t.)	168,0
Valore dei sequestri (€)	11.090.138,74
Diffide (n.)	265



ATTIVITA' DI CONTROLLO 2017

[HTTPS://WWW.POLITICHEAGRICOLE.IT/FLEX/CM/PAGES/SERVEBLOB.PHP/L/IT/IDPAGINA/12201](https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBlob.php/L/IT/IDPAGINA/12201)

○ Presenza di acido deidroacetico (DHA)

- ADDITIVO utilizzato come agente rivestimento formaggi
- 161 campioni analizzati
- irregolarità per presenza di DHA, sostanza antimicrobica il cui utilizzo non è ammesso dalla normativa UE
- inoltrate **18 notizie di reato**
- elevate 16 contestazioni
- avviate tre notifiche RASFF (aspetti igienico-sanitari)

○ Operazione «Milk»

- coordinamento Procura della Repubblica di Nocera Inferiore + supporto UIC + Uff. ICQRF Italia meridionale + Nucleo PT Guardia di Finanza
- illecito utilizzo di grassi estranei (di origine non latte) nella produzione di formaggi
- perquisizioni e sequestro circa **800 kg di formaggio a pasta filata** in provincia SA
- campionamenti di formaggi e di materie prime utilizzate per la loro produzione.

ATTIVITA' DI CONTROLLO 2017

[HTTPS://WWW.POLITICHEAGRICOLE.IT/FLEX/CM/PAGES/SERVEBLOB.PHP/L/IT/IDPAGINA/12201](https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBlob.php/L/IT/IDPAGINA/12201)

○ Operazione «Aristeo» (MBC)

- Coordinamento dalla Procura della Repubblica di Santa Maria Capua Vetere + Guardia di Finanza di Caserta e supporto tecnico ICQRF
- commercializzazione e distribuzione su territorio nazionale e all'estero di prodotti lattiero caseari contraffatti e adulterati anche mediante l'uso di sostanze potenzialmente dannose per la salute pubblica
- sequestro preventivo quote sociali e intero patrimonio aziendale (**circa 9,5 milioni di euro**) di uno dei 3 caseifici coinvolti nella vicenda.

○ «Terra dei fuochi»


- anche prodotti agroalimentari e, in particolare, lattiero-caseari.
- intensità controlli ICQRF sulla Terra dei Fuochi superiore rispetto alla media dei controlli per le altre zone d'Italia
- tasso di irregolarità inferiore alla media nazionale
- irregolarità riscontrate:
- Carenze nel sistema di tracciabilità del latte di bufala
- Mozzarella di bufala contenente latte vaccino



ATTIVITA' DI CONTROLLO 2017

[HTTPS://WWW.POLITICHEAGRICOLE.IT/FLEX/CM/PAGES/SERVEBLOB.PHP/L/IT/IDPAGINA/12201](https://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBlob.php/L/IT/IDPAGINA/12201)

○ Principali illeciti accertati

- Illecito utilizzo di acido deidroacetico come agente di rivestimento sulla crosta dei formaggi
 - Formaggi generici, e talora anche formaggi a DOP contenenti, conservanti non consentiti o non dichiarati
 - Formaggi pecorini e bufalini risultati all'analisi aggiunti di latte vaccino
 - Formaggi a pasta filata e burro contenenti grassi estranei al latte
 - Violazioni delle norme di etichettatura e presentazione dei prodotti lattiero caseari per omissioni di indicazioni obbligatorie, irregolare utilizzo di indicazioni facoltative, impiego ingannevole della designazione di origine
 - Mancata adozione di idoneo sistema di tracciabilità del latte di bufala
 - Non conformità gravi nel piano di controllo dei formaggi a DOP
- 

CONTESTO

- Ampia varietà di classi di prodotti e di prodotti
- Realtà zootecniche/trasformazione molto differenziate
- Limitata dimensione economica e tecnologica di molte imprese non sempre adeguate all'attuale scenario di mercato
- Gruppi stranieri non interessati alle produzioni tipiche, ma a costi e rese dei processi produttivi
- Prodotti a DOP → difficile innovazione (disciplinare rigido)
- Prodotti generici (pasta filata) → più spazio per innovazione
- Preferenza del legislatore UE per norme su *food safety*
- Necessità sviluppo legislazione organica di settore (EU e nazionale) per aspetti connessi a definizione qualità merceologica e metodi analitici
- Regioni settentrionali:
 - circa il 70% della produzione lattiera
 - oltre l'80% di quella industriale di formaggi
 - oltre due terzi delle unità produttive



NORMATIVA

Riferimento norma (ultimo aggiornamento)	Titolo
Decisione del Consiglio n. 92/608/CE	Fissazione dei metodi di analisi e di prova relativi al latte trattato termicamente
Reg. CE n. 1255/1999	Organizzazione comune dei mercati nel settore del latte e dei prodotti lattiero-caseari
Reg. CE n. 273/2008	Modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 1255/1999 del Consiglio per quanto riguarda i metodi di analisi e la valutazione qualitativa del latte e dei prodotti lattiero-caseari
DM 21/04/1986 SO GU ITA n. 229 del 02/10/1986	Approvazione dei metodi ufficiali di analisi per i formaggi
DM 01/07/1994 GU ITA n. 160 del 11/07/1994	Approvazione del metodo di analisi per il riconoscimento e il dosaggio del latte vaccino nella mozzarella di bufala per elettroforesi della caseina del formaggio
DM 16/05/1996 GU ITA n.162 del 12/07/1996	Approvazione del metodo ufficiale di analisi per la determinazione diretta della furosina nel latte e nel formaggio
DM 10/04/1996 GU ITA n. 135 del 11/06/1996	Approvazione del metodo ufficiale di analisi relativo al "Riconoscimento e dosaggio del siero di latte vaccino nel latte di bufala e nei formaggi prodotti con l'impiego totale o parziale di latte di bufala mediante RP-HPLC delle sieroproteine specifiche"
DM 28/03/2003 GU ITA n. 90 del 17/04/2003	Approvazione di tre metodiche analitiche per latte e formaggi
DM 26/03/1992 SO n. 67 GU ITA n. 90 del 16/04/1992	Attuazione della decisione n. 91/180/CEE concernente la fissazione di metodi di analisi e prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente
UNI EN ISO 8968-1: 2002	Latte - determinazione contenuto di azoto
ISO 18329: 2004	International standard - Milk and milk products -- Determination of furosine content - Ion-pair reverse-phase high-performance liquid chromatography method
ISO 9233-1 IDF 140-1: 2007	Cheese, cheese rind and processed cheese --Determination of natamycin content
ISO 2920 IDF 58: 2004	Whey cheese Determination of dry matter (Reference Method)
ISO 12082 IDF 52:2006	Processed cheese and processed cheese products Calculation of the content of added citrate emulsifying agents and acidifiers/PH controlling agents expressed as citric acid
UNI EN ISO 3727-1:2002	Burro Determinazione dei contenuti di umidità, solidi non grassi e grasso
UNI EN ISO 3727-2: 2002	Burro Determinazione dei contenuti di umidità, solidi non grassi e grasso Determinazione del contenuto di solidi non grassi (metodo di riferimento)
UNI EN ISO 3727-3: 2003	Burro Determinazione dei contenuti di umidità, solidi non grassi e grasso Calcolo del contenuto di grasso
ISO 15648 IDF 179: 2004	Butter -- Determination of salt content Potentiometric method
UNI EN ISO 1735:2005	Formaggi e formaggi fusi Determinazione del contenuto di grasso Metodo gravimetrico (metodo di riferimento)
ISO 1740 IDF 6: 2004	Milkfat products and butter Determination of fat acidity (Reference method)
UNI EN ISO 5534:2004	Formaggio e formaggio fuso. Determinazione del residuo secco totale (Metodo di riferimento)
ISO 8968-1:2014 – IDF 20-1/2014	Milk and milk products -- Determination of nitrogen content -- Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation


ACCREDITAMENTO E CONTROLLO UFFICIALE

LABORATORI UFFICIALI

Reg. (CE) 882/2004

- *Articolo 37* - Designazione dei laboratori ufficiali

Reg. (UE) 2017/625

- *Articolo 37* - Designazione dei laboratori ufficiali
 - *Articolo 38* - Obblighi dei laboratori ufficiali
 - *Articolo 39* - Audit dei laboratori ufficiali
 - *Articolo 40* - Deroghe all'obbligo di accreditamento per alcuni laboratori ufficiali
 - *Articolo 41* - Facoltà di statuire deroghe all'obbligo di accreditamento per tutti i metodi di analisi, prova e diagnosi di laboratorio utilizzati dai laboratori ufficiali
 - *Articolo 42* - Deroghe temporanee all'obbligo di accreditamento dei laboratori ufficiali
- 

ACCREDITAMENTO E CONTROLLO UFFICIALE

METODI UFFICIALI

Reg. (CE) 882/2004 (Art. 11)

- norme comunitarie oppure
- norme o protocolli riconosciuti internazionalmente, ad esempio:
 - (CEN) o
 - legislazione nazionale
- metodi di analisi essere convalidati in un unico laboratorio conformemente ad un protocollo riconosciuto internazionalmente.


I metodi di analisi devono essere caratterizzati, quando possibile, dai criteri opportuni elencati nell'allegato III.

Reg. (UE) 2017/625 (Art. 34)

- norme dell'Unione europea
- metodi conformi a pertinenti norme o protocolli riconosciuti internazionalmente (anche CEN)
- metodi sviluppati o raccomandati dai **laboratori di riferimento** dell'Unione europea e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente
- metodi conformi alle norme pertinenti definite a livello nazionale o
- se tali norme non esistono, metodi pertinenti sviluppati o raccomandati dai laboratori di riferimento dell'Unione europea e convalidati in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente
- metodi pertinenti sviluppati e convalidati da **studi interlaboratorio o intralaboratorio** sulla convalida dei metodi in base a protocolli scientifici accettati internazionalmente.
- **metodi diversi** (lab riconosciuti), in attesa di convalida di metodi appropriati

I metodi devono essere caratterizzati, ogniqualvolta possibile, dai criteri opportuni (allegato III)

ACCREDITAMENTO E CONTROLLO UFFICIALE

- Accredитamento flessibile
 - è concretamente applicabile ? ...
 - ... forse in futuro: «*Dovrebbe essere data preferenza a metodi di analisi uniformemente applicabili a più categorie di prodotti, rispetto a quelli che si applicano soltanto a singoli prodotti*»
(All. III, p. 3 – Reg. UE 2017/625)
 - Assenza di PT
 - Perossidasi nel latte
 - Grassi estranei al grasso di latte vaccino
 - Caseinato e latte vaccino in formaggi di pecora, capra e bufala o misti di P/C/B
 - Acido sorbico e sorbati in formaggi
 - Acido benzoico e benzoati in formaggi
 - Natamicina/pimaricina in formaggi
 - Esametilentetrammina/formaldeide in formaggi
 - ...
 - Catena della riferibilità
- 

VALUTAZIONE DELLA CONFORMITA'

- Incertezza di misura
 - Approccio olistico
 - Metrologico
 - circuiti interlaboratorio
 - ripetibilità intermedia
 - (Horwitz)
- Cifre significative (e U)
- Arrotondamento
- Valutazione della conformità ...



CONFORMITA' AL LIMITE

- norme ILAC e ISPRA
- Dec. (CE) 657/2002
 - ccalfa e ccbeta
- Tra le più importanti caratteristiche prestazionali di un Processo di Misurazione Chimica, vi sono quelle relative alla misura della capacità di rilevamento e di quantificazione, che, normalmente, vengono espresse attraverso i seguenti parametri:
- Limite *critico*, LC;
- Limite di *rilevazione*, LR;
- Limite di *quantificazione*, LQ.
- Questi parametri sono essenziali per il corretto sviluppo e la corretta validazione delle metodiche analitiche impiegate, soprattutto quando esse devono soddisfare particolari requisiti in termini di rilevazione e/o quantificazione di livelli di sostanze la cui presenza/assenza è regolamentata per legge.
- Le più recenti interpretazioni condivise a livello internazionale, suppongono che la funzione di distribuzione del segnale stimato S (o della relativa quantità x), ottenuta tramite prove ripetute in condizioni controllate, sia il fattore determinante per la stima dei parametri relativi alla capacità di rilevamento e quantificazione. Difatti, il segnale stimato S , che rappresenta la quantità fisica da determinare, è, secondo tale approccio, distribuito intorno ad un valore medio con una dispersione normale (gaussiana), della quale è, pertanto, sufficiente conoscere lo scarto tipo della quantità stimata (segnale o concentrazione).
- Quando ci troviamo di fronte ad un campione in cui l'analita da determinare è assente (che prende il nome di "bianco"), il valore medio stimato, per la grandezza di interesse, dovrebbe collocarsi intorno allo zero, con una dispersione caratteristica gaussiana. Ma a causa di questa dispersione dovuta alle piccole oscillazioni casuali del segnale, è possibile registrare valori del segnale maggiori di zero anche quando l'analita è assente, e pertanto risulta fondamentale definire, con chiarezza, in quali condizioni è possibile dichiarare l'assenza di una sostanza, ad un determinato livello di confidenza. Analoghe considerazioni sono, per ovvi motivi, applicabili anche nel caso di dichiarazione della presenza dell'analita.
- Il percorso che porta alla definizione delle relazioni da impiegare per il calcolo del:
- Limite critico, LC;
- Limite di rilevazione, LR;
- è definito sulla base della teoria della verifica delle ipotesi, la quale tiene conto delle probabilità di produrre "falsi positivi" (cosiddetti errori di tipo I), e "falsi negativi" (cosiddetti errori di tipo II). Precisamente:
- l'errore di tipo I, falso positivo, si commette accettando "l'ipotesi alternativa" (analita presente) quando invece questo è assente;
- l'errore di tipo II, falso negativo, si commette accettando "l'ipotesi nulla" (analita assente), quando in realtà è presente.
- La probabilità degli errori di tipo I è indicata con α , mentre la probabilità degli errori di tipo II è indicata con β . La IUPAC raccomanda di porre α e β pari a 0,05 ciascuno. Queste probabilità sono direttamente collegate con le code unilaterali delle distribuzioni delle quantità stimate (S , x). Difatti, con alcune eccezioni, i due Limiti sopra indicati *non possono* essere derivati in assenza di nota (o presunta) distribuzione. Inoltre, si precisa che, come per tutte le prestazioni specifiche, i parametri utilizzati per calcolare LC e LR devono essere stimati con misurazioni eseguite nella regione di interesse (in questo caso nell'intervallo tra lo zero e il limite di rilevamento).
- Viceversa, il Limite di *quantificazione*, LQ, è definito in funzione di un valore di scarto tipo relativo ben specificato e ritenuto significativo per l'espressione quantitativa del risultato. La IUPAC suggerisce la soglia del 10% di scarto tipo relativo, al di sotto del quale (quindi per concentrazioni maggiori di LQ) la dispersione dei dati è sufficientemente stretta da poter esprimere la misura in termini quantitativi, mentre al di sopra di tale soglia (quindi per concentrazioni minori di LQ) la dispersione dei dati è troppo ampia per poter esprimere la misura in termini quantitativi.
-
- *Nota: Per la presentazione delle relazioni che seguono, L è utilizzato come simbolo generico per la quantità di interesse. Questo è sostituito da S nel caso di segnali dell'analita, e da x , quando si ha a che fare con concentrazioni.*
- Si suppone, ovviamente, che la dispersione (che si assume gaussiana) e la varianza (che ne rappresenta una stima) sia applicabile anche alla quantità chimica (concentrazione), derivata dalla quantità fisica (segnale).



CONFORMITA' AL LIMITE

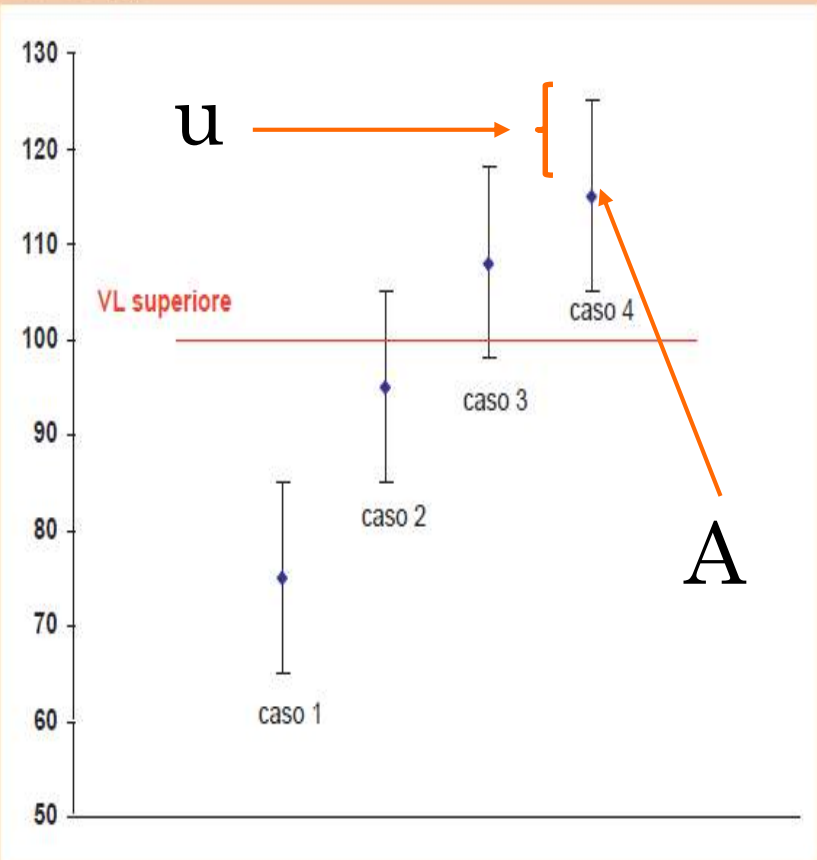
- **Metodi quantitativi**
(*norme ILAC e ISPRA*)
- **Criteri di valutazione del risultato**
 - A due code (valore) $k \cong 2$
 - A una coda (confronto con, o nei pressi di, un limite di legge, min o max) $k \cong 1,64$

$$p = 95\%$$

$$R = A \pm U \text{ udm}$$

$$R = A \pm kxu \text{ udm}$$

ILAC G8:03/2009 [8].



CONFORMITA' AL LIMITE

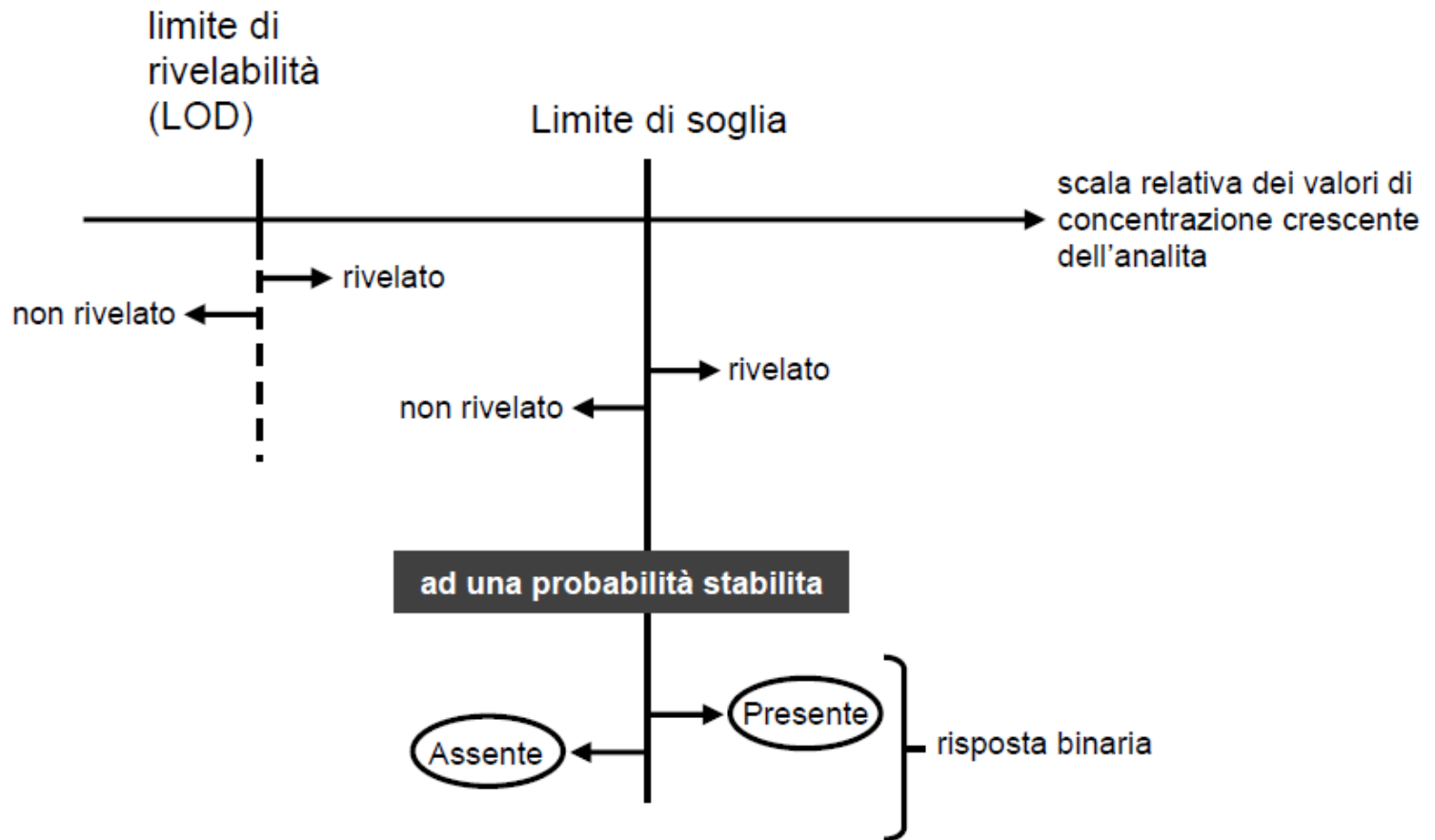
○ Metodi qualitativi

- Accordanza (“accordo % dell’esito di n ripetizioni della prova su un identico campione, in condizioni ripetibilità”, in genere $\geq 95\%$)
- Limite di rivelazione o rilevabilità (LR o $CC\beta$)
- Limite critico o di soglia (LC o $CC\alpha$)
- Cut-off



CONFORMITA' AL LIMITE

- Metodi qualitativi



PARAMETRI ISOTOPICI (E MODELLI MULTIVARIATI)

- Rapporti tra isotopi stabili di elementi chimici (C, N, O, H, S e alcuni metalli/non metalli)
 - dipendono dai cicli biologici (ma anche dall'alimentazione, dalla specie, dall'acqua, ...)
 - dipendono dal clima, dalla latitudine, ...
 - molto (e più facilmente) usati in prodotti vegetali
- Legati all'origine geografica
 - necessità di valori di “riferimento” (da confermare periodicamente)
 - solo per DOP (quindi nei disciplinari ...)
 - necessità di modelli multivariati definiti e approvati
 - necessità di vincolo giuridico



L'infrastruttura di ricerca METROFOOD-RI



Giovanna Zappa

ENEA

Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali

Divisione Biotecnologie e Agroindustria

2018

ANALYTICA

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma



RUMINANTIA[®]

Libero confronto d'idee ₁

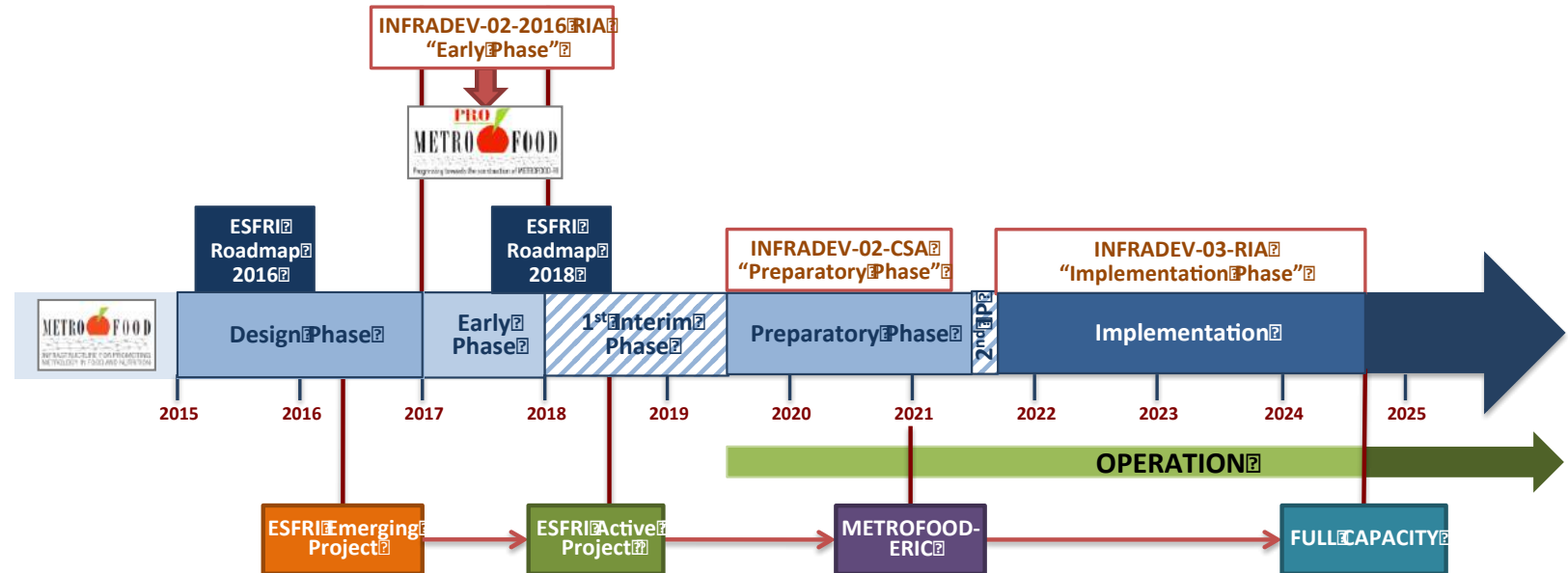
METROFOOD-RI



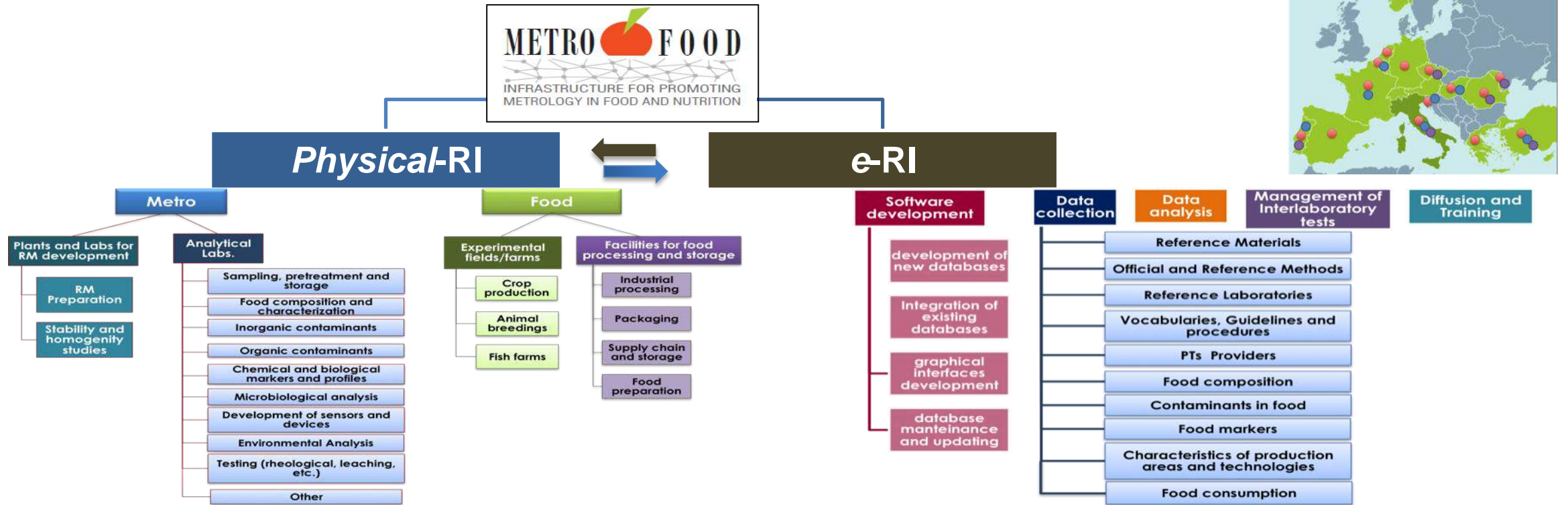
2016 ESFRI Roadmap Domain Health & Food "Emerging Project"



General objective: to enhance scientific excellence in the field of food quality & safety by promoting metrology in food and nutrition, allowing coordination on a European and increasingly on a Global scale.



Infrastruttura distribuita fisica e elettronica



Partnership



48 Partners from 18 Countries

Research Institutes Universities

Institutes for Food Safety and Health Protection

National Metrology Institutes Private Companies

Laboratories for Food Analysis

- IT
- BE
- CH
- CZ
- DE
- ES
- FI
- FR
- GR
- HU
- MD
- MK
- NL
- NO
- PT
- RO
- SI
- TR

Endorsements from International Organisations		
JRC	European Commission	IMEKO
EURAMET	Eurachem	EMPHAS
EuroFIR	MoniQA Association	SAFE
NMKL	Oleum	SPES

Users and Services

RESEARCH/ACADEMIC



POLICY MAKERS / FOOD INSPECTIONS & CONTROL



METRO FOOD

INFRASTRUCTURE FOR PROMOTING METROLOGY IN FOOD AND NUTRITION

FOOD BUSINESS OPERATORS



CONSUMERS / CITIZENS



Environmental, Food and food packaging analysis
 Agro-ecosystem characterization; Food analysis;
 Food packaging testing and characterisation

Improving Food Production and Consumption
 Food production; Food packaging, storage and distribution.



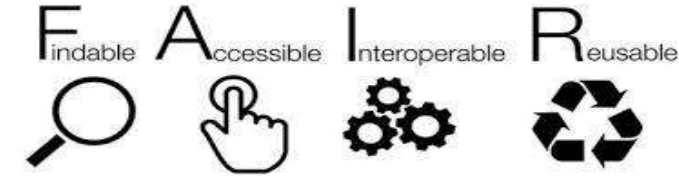
e-services
 Tools for measurement standardisation and harmonisation; Access to food data, data related to food production & processing, data on environmental and health impact; Tools for food production and processing; Tools for Food Traceability and Authenticity

Metrological and Standardisation Services
 (RM development; Development of Methods and Devices; Harmonization; Standardization).





Responsible Research Innovation

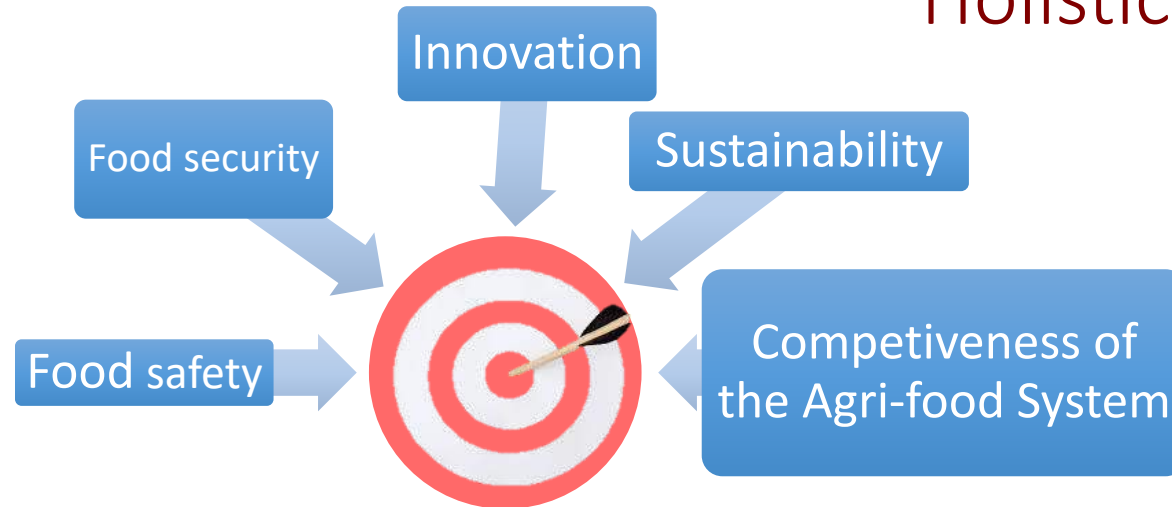


METROFOOD-RI, in full harmony with the principles of Responsible Research and Innovation (RRI) will provide distributed services, acting on the real plan of measurement reliability and procedure harmonization and adopting the FAIR approach (Findable, Accessible, Interoperable, Re-usable) on data management.

Stakeholder Forum

EU Level	Eurachem
	EU-RL FCM
	EMPHASIS
	LifeWacth
	FNH-RI
	EuroFIR
	MoniQA
	OLEUM
	SAFE Consortium
	NMKL - NordVal International
National Level	SPES GEIE
	Accredia (IT)
	CRUI (IT)
	SISSG (IT)
	Cluster Agrifood (IT)
	ASSITOL (IT)
	Federbio (IT)
	Federconsumatori (IT)
	TPF4L-SP/FIAB (ES)
	ELIKA (ES)
	ACTIA (FR)
	EFOSZ (HU)
	OPM (MK)
	FVA (MK)
	MAP (MK)
	NVWA (NL)
	OdN (PT)
	OIKOS (PT)
USAMV-FB (RO)	
TPF4L-RO (RO)	
INFOCONS (RO)	
SKM (SI)	

Holistic Approach



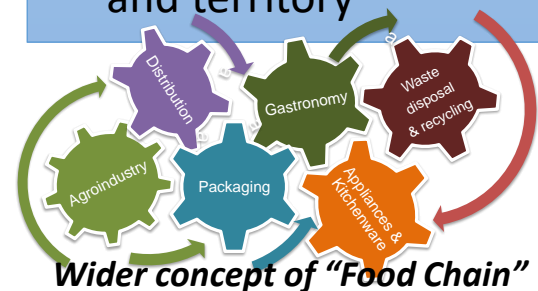
METROFOOD-RI intends to promote excellence and interoperability, tackling the research in the agri-food sector in a holistic way by integrating the issues related to Safety, Sustainability and Competitiveness of the Agro-Industrial System, aiming towards convergent objectives and aligning research and innovation with the values, needs and expectations of the whole Society.

METROFOOD valorizza l'eccellenza



METROFOOD-RI enables the industrial sector to digitalisation and internationalisation

- Increase of the reliability of quality agro-food products (e.g.: organic farming products, certified typical products) on the markets
- Reduction of the vulnerability of the production chain to frauds and tampering through development and experimentation of new approaches, methods and technologies
- Promotion of food defense
- Development of new products and new production technologies
- Development of an innovative integrated collaborative traceability system applied to the production chain level and territory



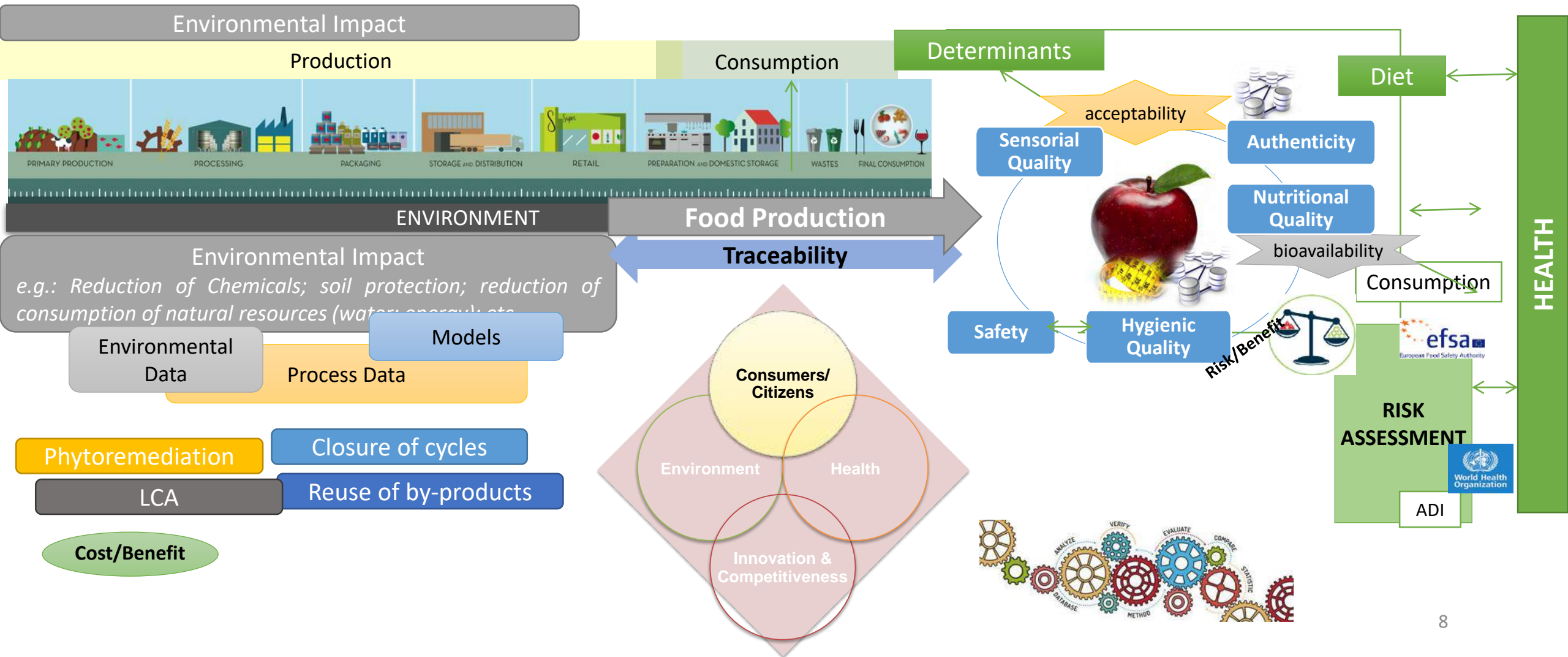
Promotion of Spin-Offs

Technology Transfer

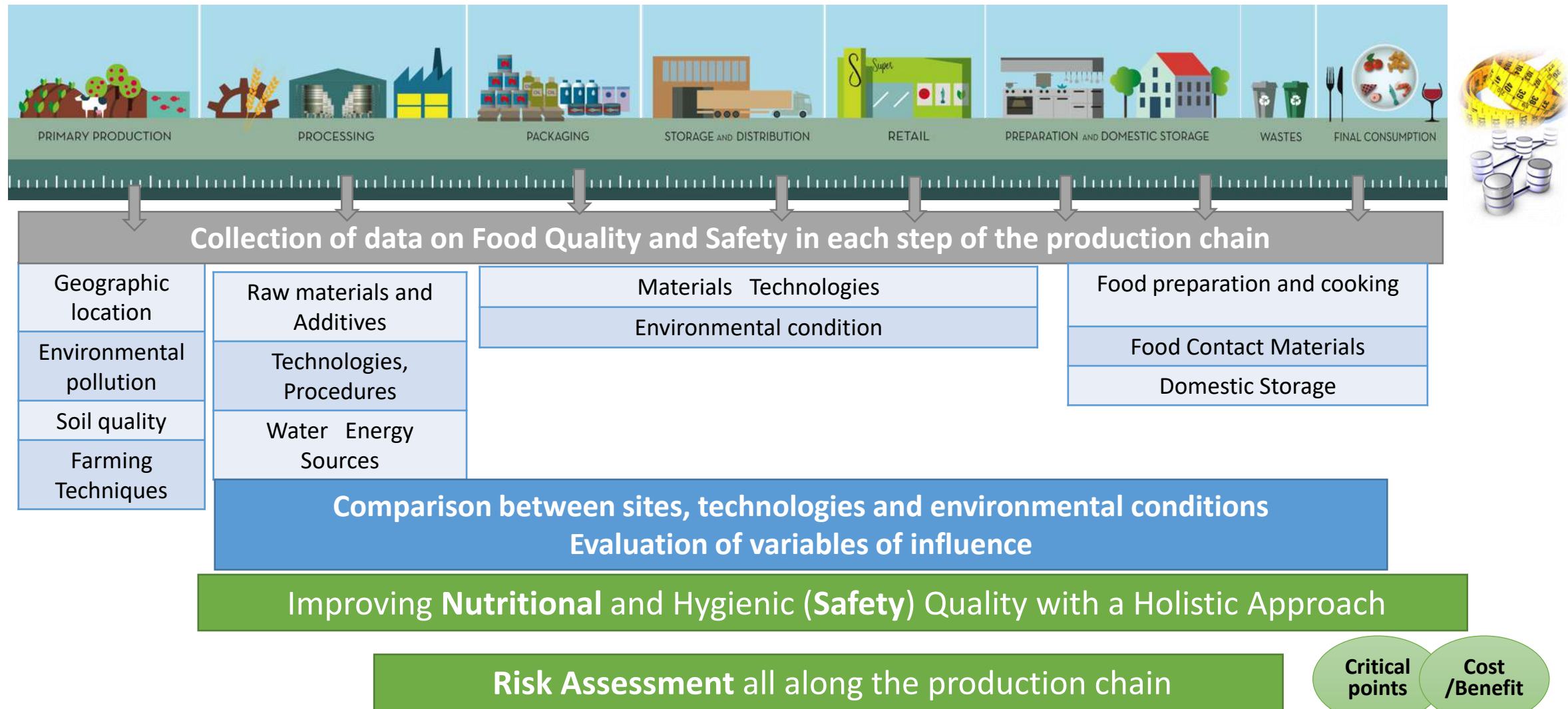
Global level of METROFOOD-RI

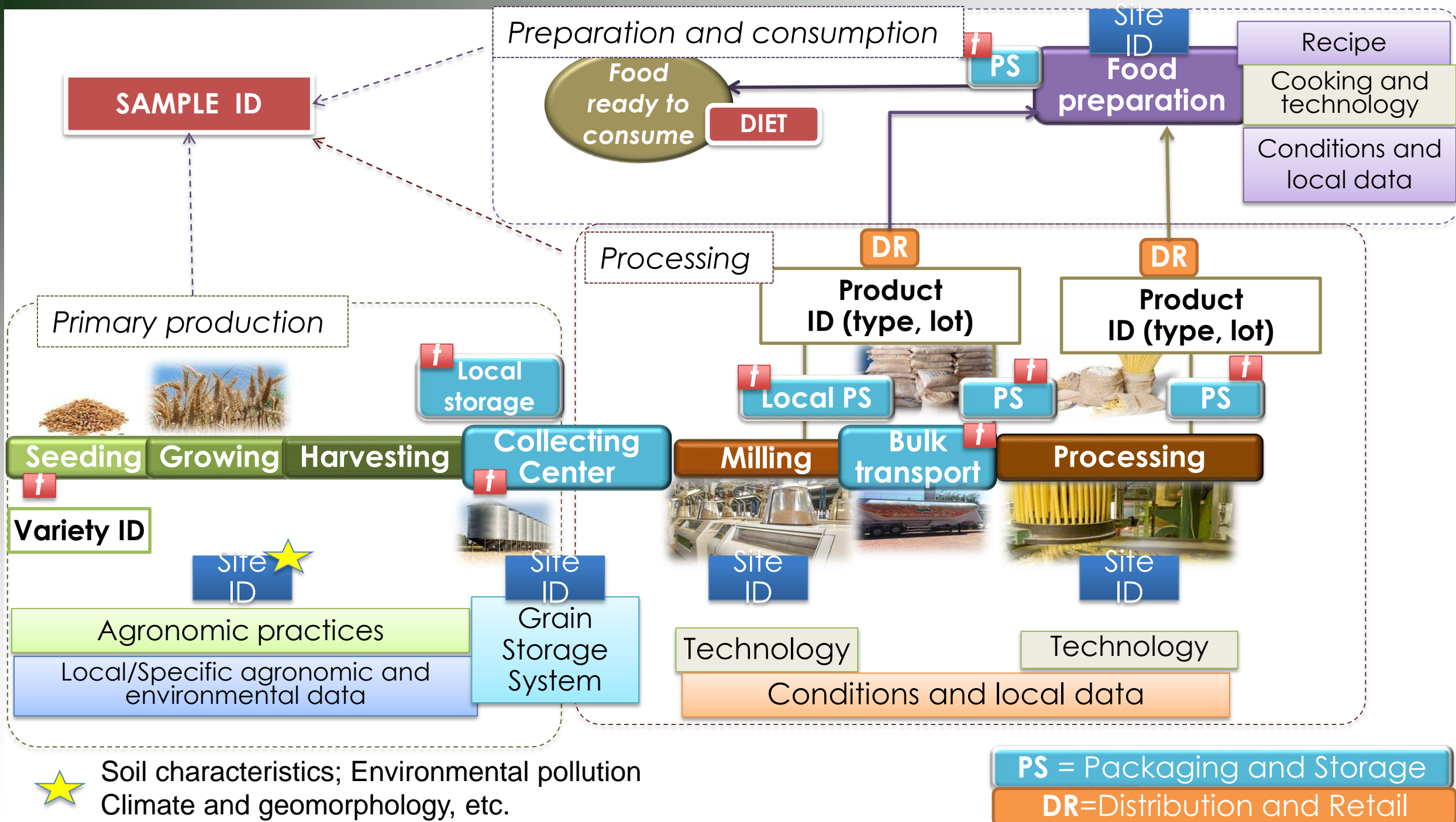


Measurements and data



Comprehensive approach to Food Quality & Safety





Thank you for your attention!

www.metrofood.eu

Coordinator

Giovanna Zappa - giovanna.zappa@enea.it

METROFOOD-RI Coordination Office

info@metrofood.eu - claudia.zoani@enea.it

Tel: +39 06 3048 6202

ENEA – C.R. Casaccia, Via Anguillarese 301
00123 Roma (Italy)





ISO/IDF

Aggiornamento sui “principali” progetti

Silvia Orlandini

2018

ANALYTICA

14-15 Marzo 2018

UNA Hotel - Via Giovanni Amendola 57, Roma

Methods Standards Steering Group



Harrie van den Bijgaart
Chair (NL)



Aurélie Dubois-Lozier
IDF HO



Marcel de Vreeze
ISO/TC 34/SC 5 (NL)

56



Philippe Trossat (FR)

Richard Johnson (NZ)

Analytical Methods
for Composition

28



Karin Kraehenbuehl
(CH)

Valérie Gaudin (FR)

Analytical Methods
for Additives &
Contaminants

5



Jackie Page (US)

Charlotte Egger (CH)

Analytical Methods
for Processing Aids &
Indicators

5



Stéphane Chartier
(FR)

Sandra Casani (DK)

Analytical Methods
for Dairy
Microorganisms

2



Barbara Gerten (DE)

Patricia Rollier (FR)

Harmonization of
Microbiological
Methods

2



Bianca Müller (DE)

Rob Crawford (NZ)

Statistics and
Automation

14

AMAC

Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines

- **Allineato con EU 657**
- **Collaborazione con AOAC**

Aflatoxin M1

- Aflatoxin M1
- ISO 14501 IDF 171
- **Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by high-performance liquid chromatography**
- ISO14674 IDF 190
- **Clean-up by immunoaffinity chromatography and determination by thin-layer chromatography**

Malamina ISO TS 15495 IDF 230

- **Adottata dal CEN**



SC SA



S09 Reference system for SCC

[IDF ICAR Ref System SomaticCellCounting2.mp4](#)

S03 New Application for IR

S14 revision of ISO 8196-3 IDF 128

S18-ISO 16297 IDF 161

S11 ISO 21187 IDF 191

S13 Bulletin Guidance on the application of a Conv. Eq. For quantitative determination of bacteriological quality of milk

Bulletin IDF 420/2013 Ref. Material for SCC

Bulletin IDF 490/2017 Ref Material for IR

SC AMC

17997-1/2 Casein determination direct and indirect method

ISO CD 20667 Acetone content by continuous flow analyzer

ISO CD 20668 BHB content by continuous flow analyzer

ISO NWI 21454 Urea content by continuous flow analyzer



Rappresenta nei comitati ISO/IDF

- Parmigiano Reggiano
- ICAR
- mpr

Grazie per l'attenzione

SCREENING FOR ANTIBIOTIC RESIDUES IN BAVARIAN EX-FARM MILK.

Christian Baumgartner and Katrin Kloth-Everding
 Milchprüfung Bayern e.V., Hochstatt 2, D-85283 Wolnzach | MCR-A@mpr-bayern.de

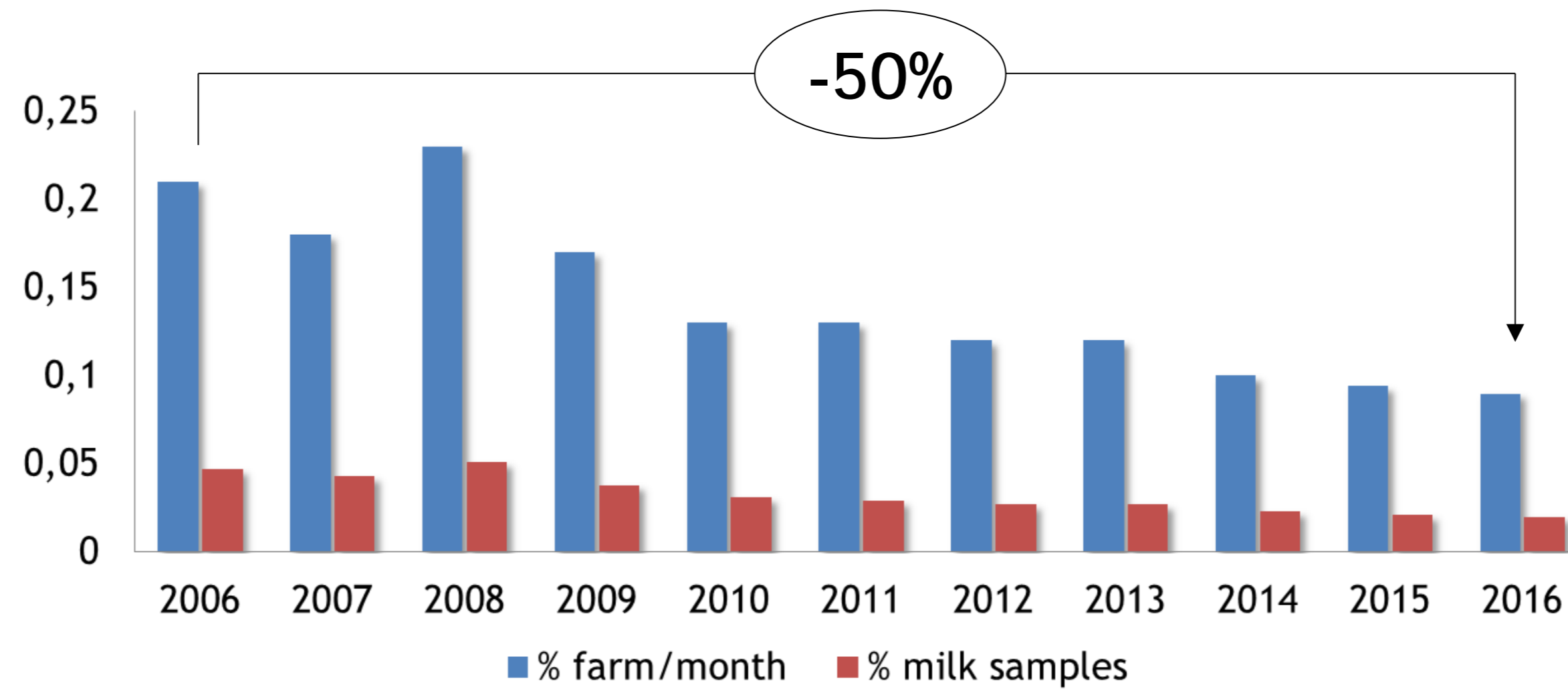
Motivation

The use of antibiotic substances in veterinary therapy is under critical observation.

On one side animal welfare of cows is entering the top themes in media and treatment of sick cows is regarded a matter of humanity, on the other side residues of drugs in food stuff of animal origin are a major concern of consumers.

In addition anti-microbial resistance is one of the global threats for human health in the 21st century.

Monitoring of Inhibitors according to the MGVO.



In Bavaria, Milchprüfung Bayern e.V. is responsible for executing the milk quality testing and payment regulation.

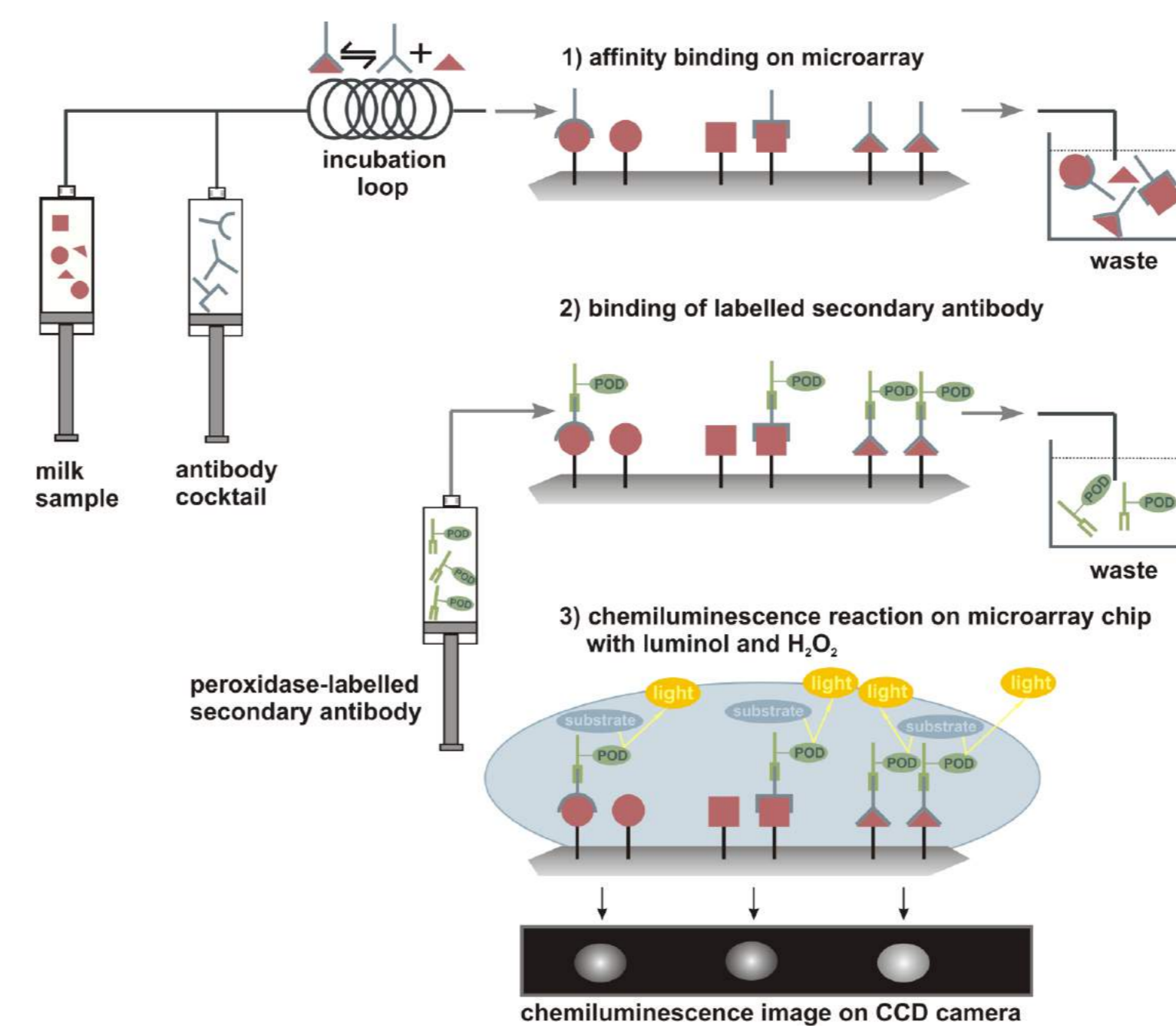
Annually around 1.9 million screening tests of ex-farm bulk milk for inhibitory substances are performed (avg. 4,6 tests/farm per month).

Data for the last 10 years show a reduction of positive findings by 50%, arriving at a frequency of inhibitor positive tests of 0.02% (16 positive tests per 100,000).

Aim and Methods



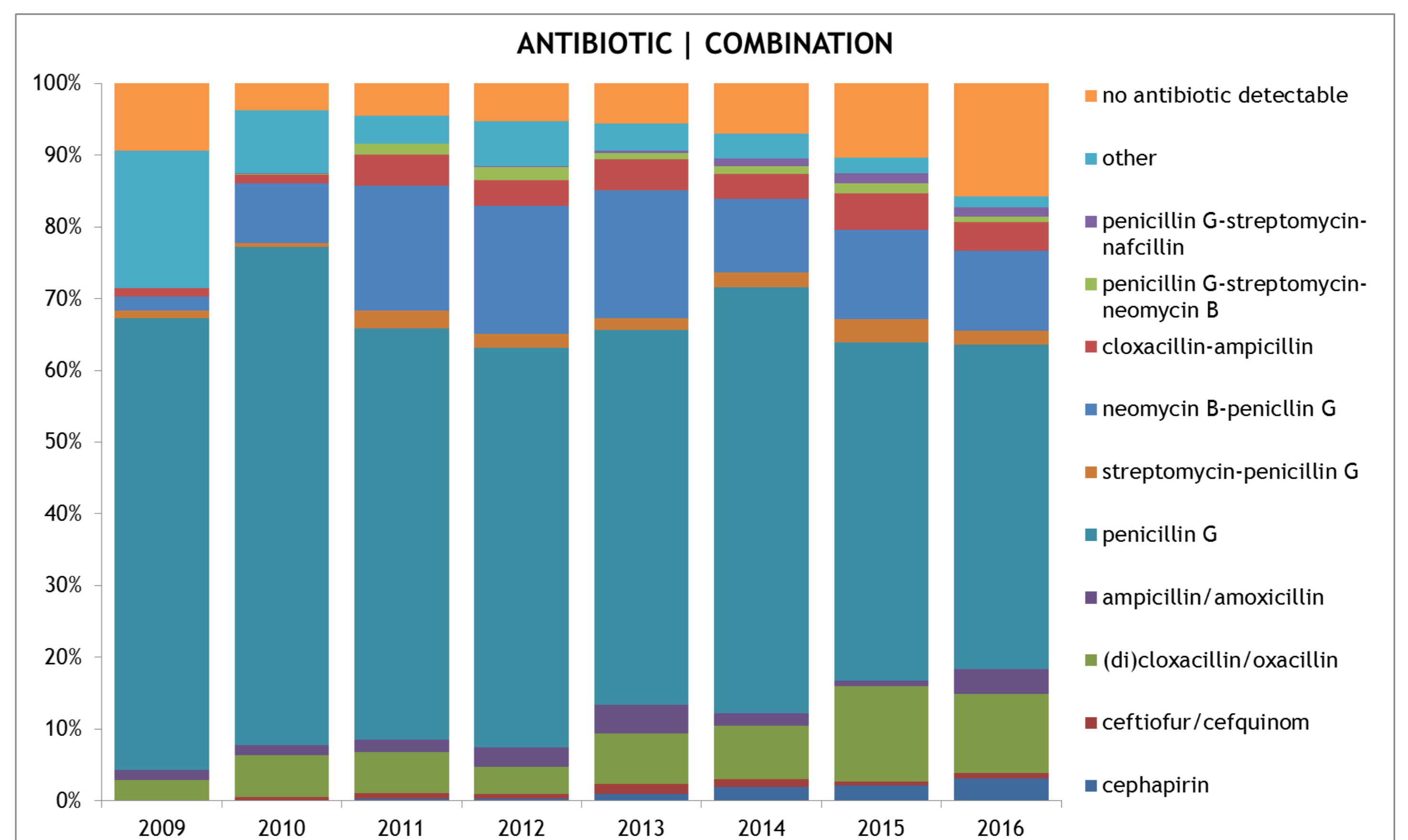
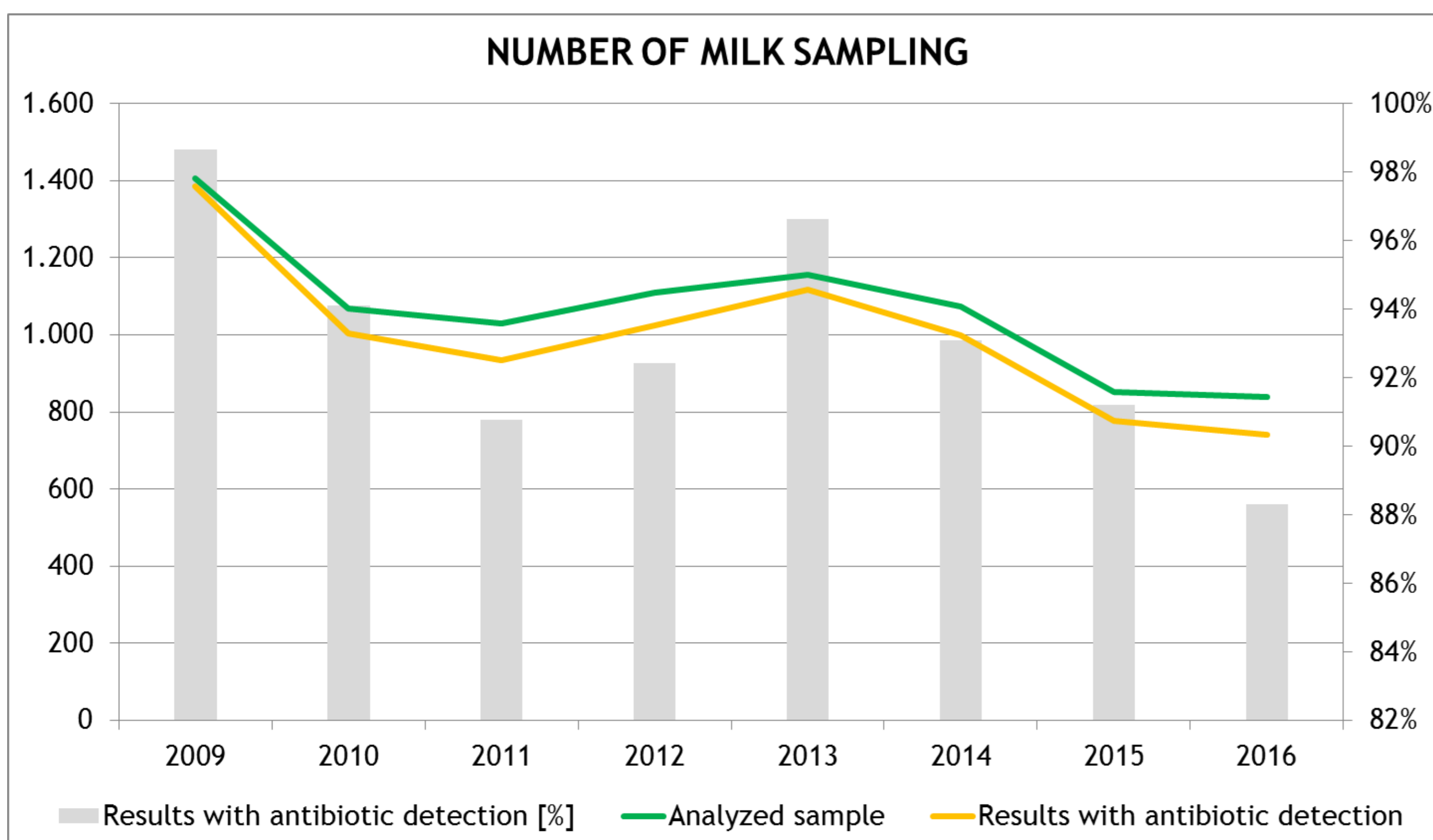
Functionality of Biosensor MCR-A.



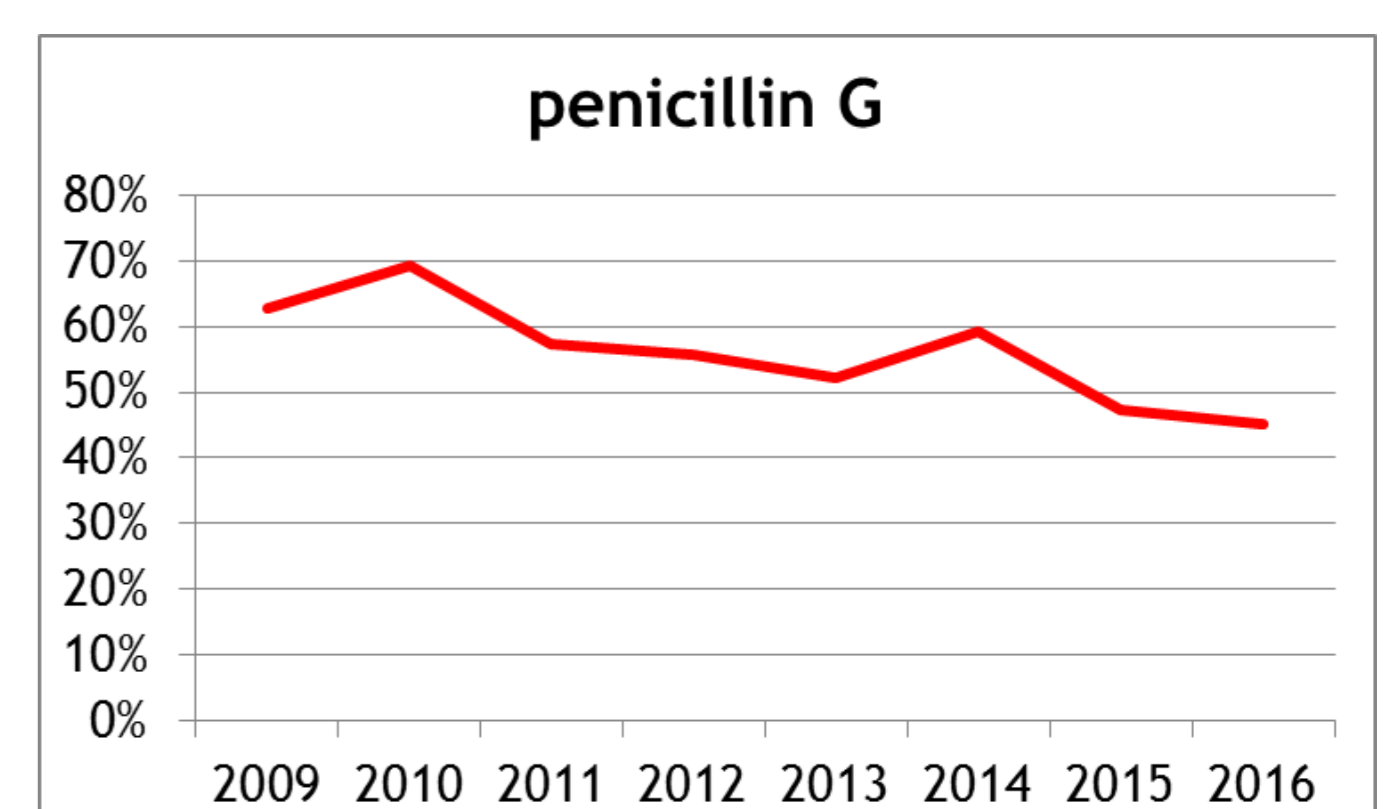
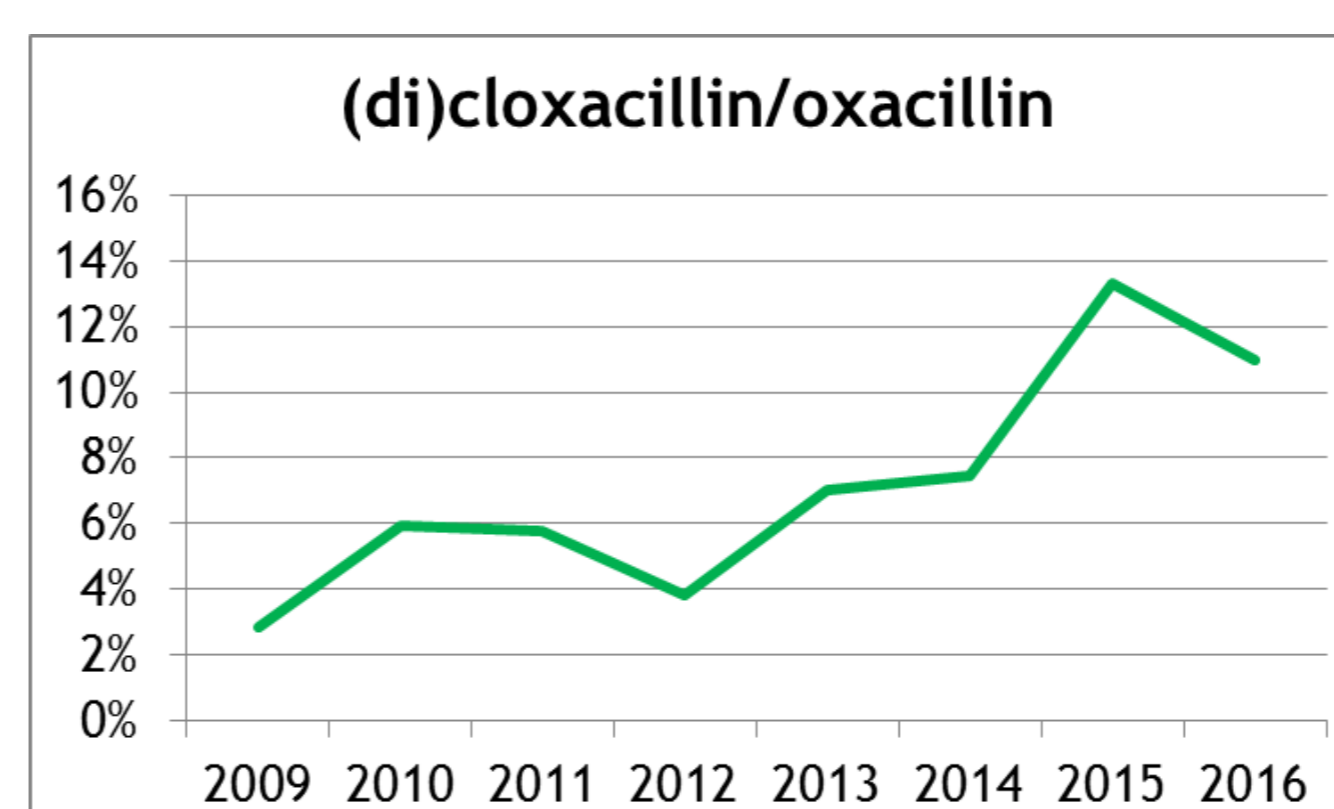
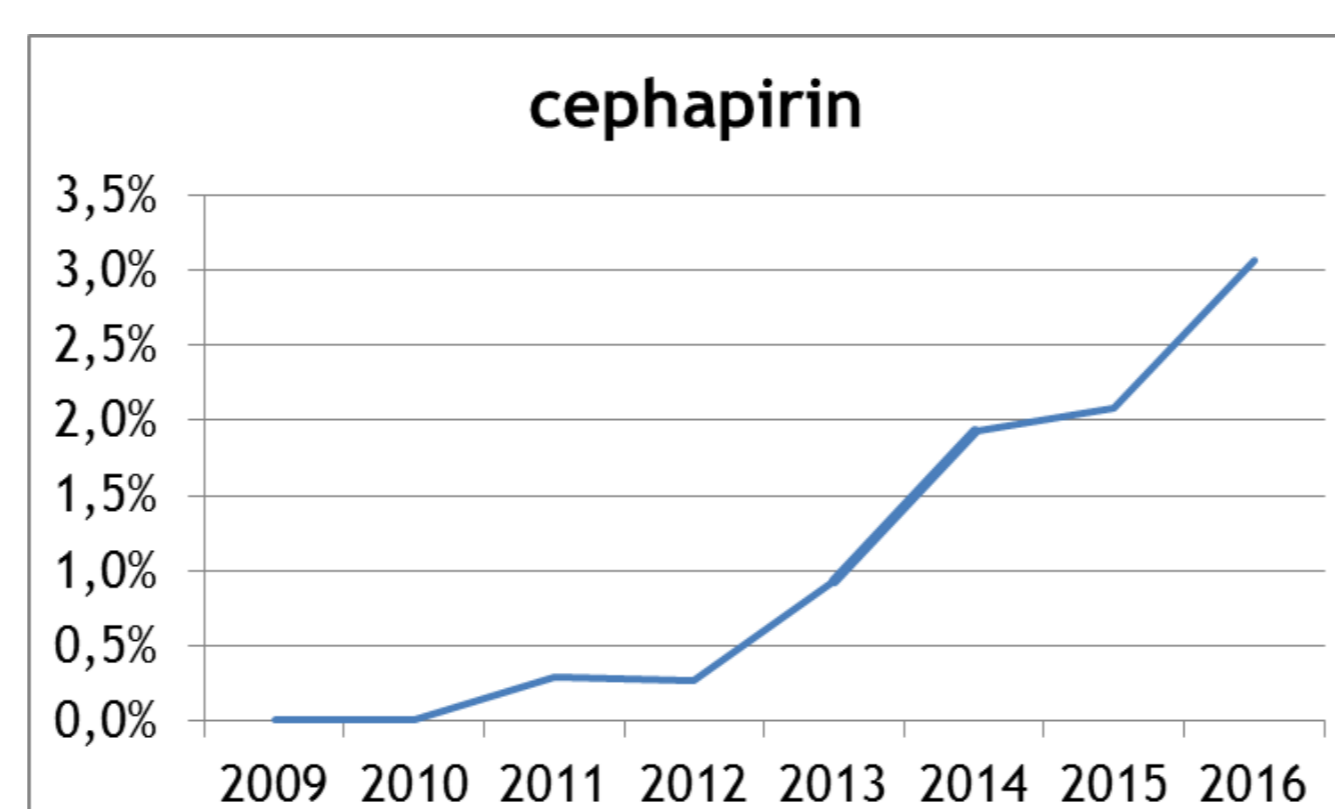
Since 2009 confirmation of the positive tests is done with MCR-A, a stand-alone platform for the parallel analysis of antibiotics in milk within six minutes by applying an indirect competitive chemiluminescence microarray immunoassay.

This MCR-A is able to detect 13 of the most commonly used antibiotics in dairy production, directly from raw milk without sample preparation.

Results and Validation



Some antibiotic substances are found more frequently today (cloxacillin, cephalosporines), whereas others are depleting (penicillin G).



Conclusion

Data prove that dairy farmers are acting responsibly in avoiding antibiotic residues in ex-farm milk and also provide information about the use of potentially critical antibiotics in dairy farming which objectifies discussions about the use of antibiotics or antimicrobial resistance.

SPIKING OF MILK WITH CHEMICAL ELEMENTS AND THEIR TRANSFER TO DAIRY PRODUCTS

A.Sorbo^a, M. Ciprotti^a, A. Colabucci^a, A.C. Turco^a, M. D'Amato^a, M. Di Gregorio^a, G. Fornari Luswergh^a, R. Giordano^a, S. Orlandini^b, L. Ciaralli^a

^a European Union Reference Laboratory for Chemical Elements in Food of Animal Origin (EURL-CEFAO)
Department of Food Safety, Nutrition and Veterinary Public Health, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy
^b Italian Breeder Association (AIA)-Laboratorio Standard Latte (LSL), Maccarese, Italy



INTRODUCTION

A pilot study was carried out to evaluate the transfer of arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb), nickel (Ni), chromium (Cr) and mercury (Hg) from milk to dairy products and to correlate their behaviour with that of some components and macro-elements of the milk.

Due to the low level of these chemical elements in most common commercial products, hard cheese was prepared from cow's milk spiked with the analytes of interest.

FEASIBILITY STUDY AND CHEESE MAKING

A preliminary experiment was carried out to verify whether the spiking of a moderately acidic standard solution could produce any modification of the milk. The proportion milk/standard solution was the same that would be used for cheese making. It was noticed that formation of curd occurred when the solution was added to the milk at coagulation temperature (about 37° C). No modification was evident when the standard solution was poured out into the milk at room temperature and then the material was heated up to the coagulation temperature under continuous stirring.

- preparation of standard solution of As, Cd, Pb, Ni, Cr and Hg and addition to filtered cow milk ("spiked milk")
- addition of the "spiked milk" to the bulk of the raw milk (about 100 litres) maintained under stirring
- heating up to 40° C and addition of lactic acid bacteria and rennet after filtering
- interruption of the mixing and waiting for the formation of curd
- breaking of the curd with a flat ladle
- separation of milk whey from curd and preparation of ricotta
- manual transfer of curd into plastic baskets (fuscelle) exerting a light pressure by hand
- positioning of the baskets in order to remove the remaining whey from cheese and to avoid their contact
- transferring of cheese into a heated (35° C) and damp (90-100% humidity) room for 24 hours and then left at room temperature
- dry salting with marine salt of medium size manually performed
- ripening in natural environment at about 8-12° C



SAMPLES AND ANALYTICAL METHODS

Spiked milk, whey, curd, ricotta, «primo sale» cheese (first stage of ripening) and ripe cheese (three months ripening)

Sample digestion: acidic microwave assisted

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry-Dynamic Reaction Cell:
As, Cd, Pb, Cr, Ni, Zn, Ca, Mn, Cu

Flame Atomic Absorption Spectrometry:
K and Ca

Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry:
Hg

RESULTS AND CONCLUSIONS

Sample (n=6)	Fat (%)	Protein (%)	Dry matter (%)	Zn (ppm)	Ca (ppm)	Mn (ppb)	Cu (ppb)	K (ppm)	As (ppb)	Cd (ppb)	Pb (ppb)	Hg (ppb)	Cr (ppb)	Ni (ppb)
Spiked milk*	3.5 ± 0.2	3.5 ± 0.02	12.6 ± 0.06	6 ± 0.5	1113 ± 30	24 ± 1.0	52 ± 8.0	1590 ± 16	50 ± 0.4	19 ± 0.2	40 ± 1.2	18 ± 0.4	49.5 ± 0.7	53 ± 1.6
Whey	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.007	7.6 ± 0.003	0.1 ± 0.01	320 ± 3.0	18 ± 1.0	19 ± 5.0	1563 ± 15	53 ± 1.3	< LoQ	< LoQ	11 ± 0.5	34.9 ± 0.5	14.1 ± 1.9
Ricotta	13.1 ± 0.9	7.8 ± 0.1	26.1 ± 0.5	0.8 ± 0.07	545 ± 7.5	18 ± 1.0	210 ± 14	1591 ± 1.7	55 ± 1.3	8.0 ± 0.4	< LoQ	141 ± 6.3	60.5 ± 4.2	47.7 ± 11.6
Curd	20.5 ± 0.8	16.8 ± 1.3	42.2 ± 0.8	25 ± 1.3	4379 ± 67	110 ± 1.0	240 ± 5.0	1230 ± 30	36 ± 0.8	108 ± 3.8	235 ± 12.2	69 ± 1.4	157 ± 1.6	202 ± 5.4
Primo sale	29.4 ± 0.02	23.3 ± 0.06	62.0 ± 0.4	37 ± 3.0	7641 ± 102	180 ± 3.0	350 ± 12	1164 ± 33	62 ± 2.8	162 ± 1.2	349 ± 10.8	94 ± 1.3	222 ± 26	400 ± 7.1
Ripe cheese	38.8 ± 0.2	30.9 ± 0.2	81.7 ± 0.1	48 ± 0.9	9221 ± 39	170 ± 2.0	440 ± 11	1501 ± 36	81 ± 6.4	205 ± 6.5	464 ± 4.3	118 ± 4.2	219 ± 3.0	395 ± 6.0

* Milk spiked with As, Cd, Pb, Hg, Cr and Ni

The link between spiked chemical elements and milk components was demonstrated through both the study of concentration factors and the evaluation of the Principal Component Analysis and correlation matrix. Except for As, all the spiked elements seemed to shift preferentially into curds indicating a possible bond to certain proteins and fat components. Bivalent positive ions (Cd, Pb, Ni and Cr) could be complexed to casein through its phosphate groups that are negatively charged. It could be also assumed a similar association with low molecular weight ligand as citrate but the first hypothesis can be the most explicative considering the high casein concentration and the preferential shift into curd. As for Hg, the relation with fat could be only assumed taking into account their similar concentration factor in the intermediate and final products.

2 MEASUREMENT UNITS FOR TOTAL BACTERIA COUNT OF RAW MILK

Autors: Silvia Orlandini¹ – Berte Asmussen²

¹ Consorzio del Parmigiano Reggiano ² Raw Milk Connected

ABSTRACT

The microbiological quality of ab-farm milk is recorded by automated milk analyzers, based on flow cytometry. The results are recorded as Individual Bacteria Counts (IBC's) and transformed into Colony Forming Units (CFU's), via mathematical equations. However, this conversions may vary considerably across laboratories. These differences present a challenge to the dairy industry, as international trade of raw milk and dairy products has increased. This has also financial consequences as money is paid out as quality bonuses. Consequently, it is necessary to advice on the unit of measurements, and how they are obtained. IDF wishes to promote the communication between the dairy stakeholders to prepare a fertile soil for future solutions

INTRODUCTION

The microbiological quality of most ab-farm milk is analyzed by automated milk analyzers, based on flow cytometry. The results are recorded as Individual Bacteria Counts (IBC's) and often converted to Colony Forming Units (CFU's), via mathematical equations. This conversion is basically different from e.g. fat-calibrations, as the measured parameters are not identical and much larger variations MUST be expected. Conversion equations vary considerably across laboratories (Fig. 1) and they present a serious challenge to international dairies as large sums of money are paid out as quality bonuses. Consequently, it is necessary to standardize the unit of measurement used for bacteria recording.

AIM

The aim of this project is to inform the dairy stakeholders on the methods and strategies applied to count bacteria in raw milk. The description of the different analytical strategies adopted by the different countries to comply with the legislation, national or industrial monitoring program are real examples for total bacteria count in raw milk

SCENARIO

Worldwide bacteria monitoring in raw milk applies either IBC or CFU's. Bacteria testing serves a dual purpose: a) farmer settlement and b) compliance with regulations. Combining the 2 solutions is possible: CFU's are applied for regulatory purposes and IBC for payment .

Examples are Canada, Norway and UK, which have been using IBC's for many years . Like the US and Brazil, most EU states have developed national conversions except France, who applies regional conversions. At present EU members evaluate the consequences of adopting an harmonized EU conversion, while North European farmers members of dairy co-op Arla Foods have implemented a settlement model based on IBC's, whereas the IBC's are converted to CFU's when checking compliance with EU-regulations.

CONCLUSIONS

The IDF Action Team S13 "Guidance on the application of a conversion equation for quantitative determination of bacteriological quality in milk" has on the program to publish and IDF Bulletin were detailed information on the solutions adopted are described.

We hope that this poster make you more curious on this issue and we invite you to follow the project on the IDF website www.fil-idf.org

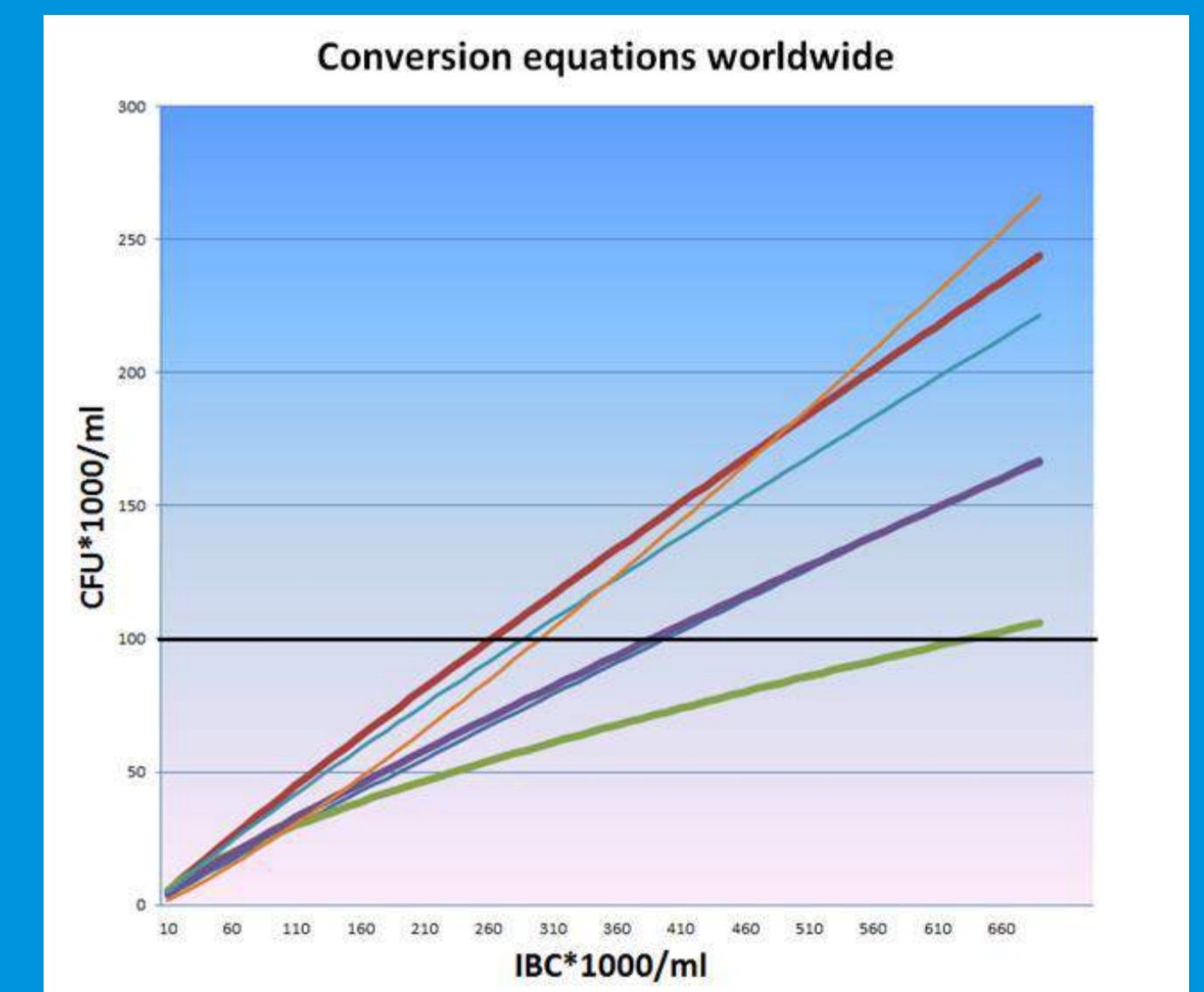


Figure 1

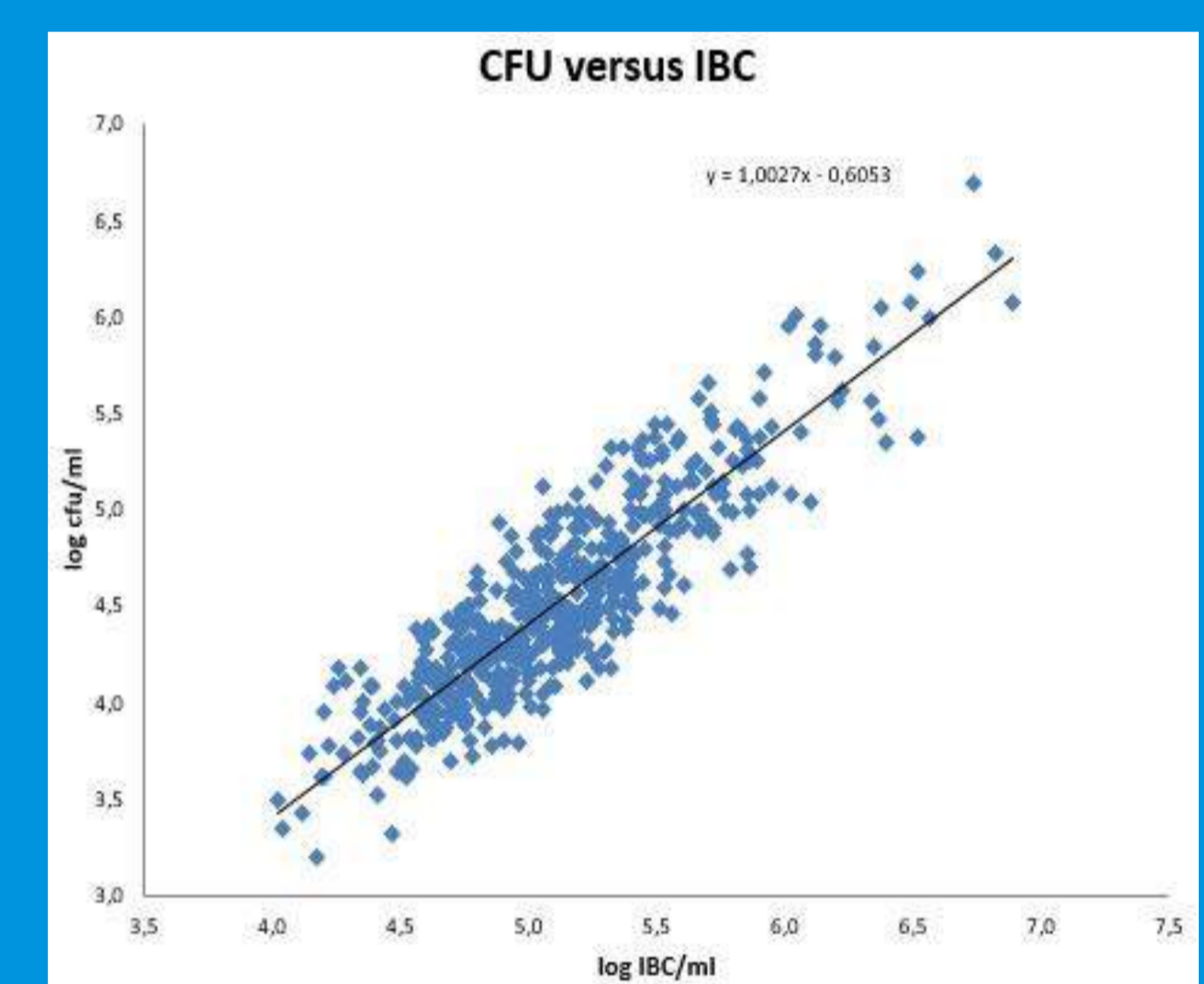


Figure 2

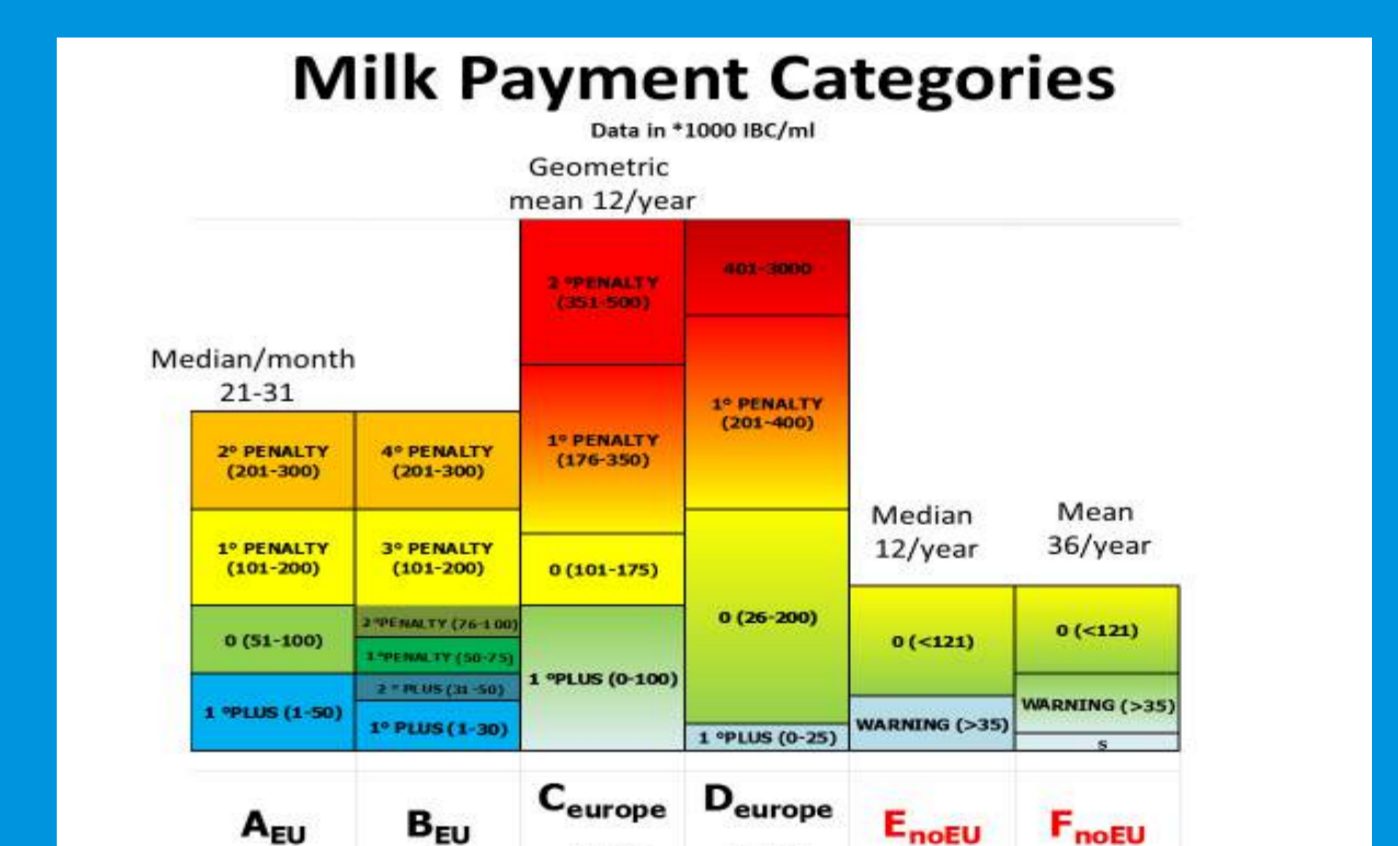


Figure 3

Conversion Unit CFU

Pro's

Comparable with most legal limits

CFU's are well known by farmers and retailers

Possible analytical approach if a national or international conversion table is applied

Cons's

Estimated CFU's may be very different from actual CFU's, - relevant in legal disputes

High costs for development and maintenance of conversions

Results are dependent of the analyzing lab

No Conversion Unit IBC

Pro's

Good tool for hygiene improvement due to better detection of undesirable bacteria, such as Psychotropic bacteria

No costs for development and maintenance of conversions

Results are independent of analyzing lab

Cons's

Instruments from different suppliers may require conversion between the devices

IBC's are not well known by all stakeholders, so benefits and levels must be explained



THE GLOBAL STANDARD FOR LIVESTOCK DATA

Network. Guidelines. Certification.

Stay connected globally with milk analysis

GLOBAL ICAR PROFICIENCY TEST FOR MILK LABORATORIES

It provides an international accredited ISO 17043 Proficiency Test (PT) programme. The participation complies with analytical quality assurance requirements of ISO 17025.

The PT parameters are: fat, protein, urea, somatic cell, lactose, Beta-Hydroxybutyric (BHB), bacteria DNA (PCR technique) and Pregnancy Associated Glycoproteins (PAG).



ICAR MILK PROFICIENCY TEST - MARCH 2017
COUNTRIES WITH AT LEAST ONE LABORATORY IN THE PT ARE IN DARK SHADE ABOVE

Your ICAR PT at the glance

With an individual and customized report ICAR PT provides in "eight points" all the necessary information of your performance.

Pass-Fail tables describe your analytical process for an easier identification of the critical points.

Control charts for each parameter are updated over the time.

The collage displays various components of the ICAR PT report:

- Chemical Reference Methods Laboratory participation codes and Performance analyses:** This section includes tables for requirements, laboratory participation codes, and performance analysis results. It features color-coded cells (green for good, yellow for warning, red for failure) indicating the status of different parameters and laboratories.
- Control Charts:** Multiple line graphs showing performance trends over time for parameters such as Fat, Protein, Lactose, UREA, SCC, and BHB. Each chart includes a legend and a note about the laboratory's participation status.
- Pass-Fail Tables:** Tables that provide a clear overview of the laboratory's performance against the PT requirements, highlighting areas of strength and areas needing attention.

ICAR PT compares your analytical devices on a global scale !

