

EVALUATION : LE SOMACOUNT 150

Le Somacount 150 de la société Bentley est un appareil automatique de numération des cellules somatiques du lait. Il utilise une méthode optofluoroélectronique et la cytométrie de flux. Ses caractéristiques analytiques et instrumentales ont été évaluées par CECALAIT. Le traçage et la linéarité de l'appareil apparaissent conformes aux exigences réglementaires. Quant à ses performances de précision : répétabilité et justesse, elles le rendent aptes à une utilisation en laboratoire interprofessionnel ou de contrôle laitier.

Le Somacount 150 est un appareil automatique de dénombrement des cellules somatiques dans le lait fabriqué par la société BENTLEY (USA). Il fonctionne selon la méthode optofluoroélectronique et en cytométrie de flux. Le laboratoire de physico-chimie de CECALAIT a évalué cet appareil de décembre 1995 à février 1996 (essai 1), puis à nouveau en décembre 1996 (essai 2).

PRINCIPE ET DESCRIPTION

L'appareil est asservi à un micro-ordinateur qui assure le pilotage complet de l'instrument et le traitement du signal.

L'échantillon prélevé automatiquement est dilué dans un mélange réactif colorant, solution tamponnée de triton X 100 et de bromure d'éthidium, de manière à en disperser les globules gras et à colorer les noyaux des cellules somatiques. Une partie aliquote de la suspension cellulaire colorée est injectée dans un fluide vecteur en écoulement laminaire dans un capillaire. Les cellules séparées par le flux sont exposées au faisceau d'un laser He - Ne. Les impulsions lumineuses émises par fluorescence par le colorant fixé par les cellules sont amplifiées au niveau d'un photomultiplicateur, comptabilisées au-delà d'un certain seuil, puis traduites en termes de concentration cellulaire. Le logiciel de l'instrument permet de choisir, soit un seuil de comptage fixe, soit un seuil variable propre à chaque échantillon.

LES ESSAIS

Les essais ont été effectués, avec seuil de comptage variable, sur l'appareil en configuration standard, mais équipé d'un passeur d'échantillons, d'où un volume de purge amené à 3,5 ml au lieu de 3 ml en l'absence de passeur. Ils ont porté sur les points suivants :

- ♦ Evaluation de la contamination entre échantillons, (lors de l'essai 1, uniquement)
- ♦ Evaluation de la linéarité, (lors de l'essai 1, uniquement)
- ♦ Evaluation de la répétabilité,
- ♦ Evaluation de la justesse.

Les critères d'appréciation de ces différents paramètres se basent sur la norme FIL 148A: 1995.

① CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Elle a été évaluée en mode automatique (avec utilisation du passeur) par l'analyse d'un même lait individuel et d'eau selon la

séquence: LAIT - LAIT - EAU - EAU, répétée 10 fois. Ce test a été effectué sur 4 laits de niveaux cellulaires différents, avec un coefficient de traçage fixé à 0.

Le taux de contamination (Tc %) a été estimé par la formule:

$$Tc = [S(EAU 1) - S(EAU 2) / S(LAIT 2) - S(EAU 2)] \times 100$$

Dans ces conditions, le système laisse apparaître des contaminations variables en fonction du niveau de la concentration cellulaire de 0 à 0,71 %. Les valeurs obtenues restent dans la limite de 1 % autorisée pour les méthodes rapides de détermination de la richesse du lait.

② LINEARITE

Elle a été évaluée au moyen d'une gamme de 10 laits aux taux régulièrement répartis entre 0 et 2000×10^3 cellules / ml environ, analysée en mode manuel (sans utilisation du passeur), dans l'ordre croissant des teneurs (à raison de 3 répétitions successives par échantillon).

Une telle gamme a été réalisée au moyen de dilutions Poids / Volume à partir d'un concentré cellulaire à 2000×10^3 cellules / ml environ et d'un filtrat exempt de cellules, obtenus par microfiltration.

Les résultats ont montré une linéarité satisfaisante sur la gamme de 0 à 2000×10^3 cellules somatiques / ml.

③ REPETABILITE

La répétabilité a été évaluée en mode automatique par l'analyse de :

- ♦ 133 laits individuels de vache provenant de 8 élevages, conservés avec du Bronopol (0.02 % final), pour l'essai 1
- ♦ 119 laits individuels provenant de 7 élevages, conservés dans les mêmes conditions, pour l'essai 2.

Chaque élevage a été analysé, en double, selon la séquence suivante (en accord avec la norme FIL 128):

Elevage 1 rép 1 - Elevage 1 rep 2 -Elevage 2 rép 1
.....Elevage n rep 1 - Elevage n rep 2.

Entre deux répétitions, les échantillons ont été remis au bain marie pour réchauffage jusqu'à la température souhaitée.

Les résultats sont consignés dans le tableau 1.

tableau 1 : répétabilité du Somacount 150

ESSAI 1					
Etendue x 1000	n	Moyenne	Sr	Sr %	r
0 - 100	65	40	2.5	6.23	7.0
100 - 300	31	180	4.0	2.22	11.1
300 - 800	26	515	10.5	2.03	29.1
800 - 1500	6	1064	10.9	1.03	30.2
1500 - 3000	5	2216	19.6	0.89	54.3
0 - 3000	133	293	6.9	2.36	19.2
ESSAI 2					
0 - 100	57	50	3.0	5.89	8.3
100 - 300	30	167	5.4	3.21	14.9
300 - 800	20	533	8.1	1.53	22.5
800 - 1500	9	956	11.9	1.25	33.1
1500 - 3000	5	2116	28.4	1.35	78.7
0 - 3000	119	315	8.2	2.61	22.7

avec n : nombre d'échantillons

Sr : écart-type de répétabilité

Sr% : écart-type de répétabilité relatif en %

r : estimation de la répétabilité

Ce tableau permet de conclure que le Somacount 150 présente une répétabilité conforme aux indications de la norme FIL 148A, à savoir un écart type de répétabilité relatif moyen inférieur à 5 %, ce qui, dans le détail veut dire :

♦ compris entre 5 et 10 % pour les teneurs inférieures à 100 000 cellules / ml

♦ inférieur (ou égal) à 5 % au delà.

● JUSTESSE

La justesse a été estimée au moyen de l'écart type résiduel de régression et des écarts types des écarts, en prenant :

- ♦ la méthode de référence en variable expliquée Y,
- ♦ le Somacount 150 en variable explicative X, obtenue par régression linéaire simple (moyenne des résultats comptages visuels; moyenne des résultats appareil).

Quant à la précision, elle a été mesurée par le biais moyen (\bar{d}) et l'écart type des écarts (Sd). L'écart type résiduel (Sy,x) montre le degré d'ajustement possible pour l'optimisation de la pente.

> procédure

Pour ce faire, on a employé :

♦ au cours de l'essai 1, 100 laits individuels de vache, qui avaient été sélectionnés parmi 133 prélevés dans 8 élevages du Jura, puis ont été analysés en double sur le Somacount 150, préalablement calibré entre 0 et 800 000 à l'aide de 5 échantillons commerciaux produits par CECALAIT.

♦ au cours de l'essai 2, 80 laits individuels de vache, qui avaient été sélectionnés parmi 119 prélevés dans 7 élevages du Jura puis ont été analysés en double sur le Somacount 150, préalablement calibré entre 0 et 1800 000 à l'aide de 9 échantillons commerciaux produits par CECALAIT.

Ils ont ensuite été analysés en simple par la méthode de référence au microscope (FIL 148A). En cas de résidu trop important après régression, un deuxième comptage a été effectué.

> résultats

Les droites de régression linéaire obtenues entre 0 et 2000 x 10³ cellules / ml montrent un bon ajustement de l'étalonnage pour les deux essais et une bonne concordance entre les valeurs de référence et les résultats obtenus avec l'appareil calibré. Leurs équations respectives sont :

essai 1

pour n = 97 : $REF = 0.946 \times X + 15.3$
 $Sy,x = 28100$ et biais moyen = + 800

pour n = 92 : $REF = 0.958 \times X + 13.8$
 $Sy,x = 20900$ et biais moyen = - 1900

essai 2

pour n = 77 : $REF = 0.982 \times X + 4.7$
 $Sy,x = 25580$ et biais moyen = + 2000

pour n = 72 : $REF = 0.982 \times X + 3.9$
 $Sy,x = 19370$ et biais moyen = +2200

On remarquera cependant que l'essai 2 présente un ajustement légèrement meilleur que l'essai 1 (notamment au niveau de la pente de régression et de l'ordonnée à l'origine). Il faut relier cette amélioration aux modalités de calibrage de l'appareil plus complètes lors du second essai

Les tableaux 2 et 3 donnent les paramètres de justesse du Somacount 150, calculés par tranche de taux cellulaires

Tableau 2 : Justesse du Somacount 150 - Essais 1 et 2

ESSAI 1					
Etendue (x 1000)	n	Moyenne	\bar{d}	Sd	+/- I
0 à 500	76 (74)	154 (155)	- 5.1 (- 5.7)	26.1 (21.2)	+/- 52.2 (+/- 42.2)
500 à 1000	16 (14)	654 (640)	+ 5.1 (+ 1.3)	29.6 (20.3)	+/- 59.2 (+/- 40.6)
1000 à 2000	5 (4)	1395 (1445)	+ 78.1 (+ 57.4)	60.2 (42.5)	+/- 120.4 (+/- 85.0)
0 à 2000	97 (92)	300 (285)	+ 1.0 (- 1.9)	34.2 (25.4)	+/- 68.4 (+/- 50.8)
ESSAI 2					
0 à 500	56 (55)	174 (171)	- 2.1 (- 1.0)	20.8 (19.3)	+/- 41.6 (+/- 38.6)
500 à 1000	17 (14)	728 (711)	+ 13.6 (+ 8.6)	34.9 (20.3)	+/- 69.8 (+/- 40.6)
1000 à 2000	4 (3)	1476 (1597)	+ 9.4 (+ 30.7)	44.7 (16.6)	+/- 89.4 (+/- 33.2)
0 à 2000	77 (72)	364 (335)	+ 2.0 (+ 2.2)	26.3 (20.4)	+/- 52.6 (+/- 40.8)

avec

n : Nombre d'échantillons

\bar{d} : Moyenne des écarts (appareil - référence)

Sd : Ecart type des écarts (appareil - référence)

+/- I : Intervalle de confiance pour 95 % des résultats

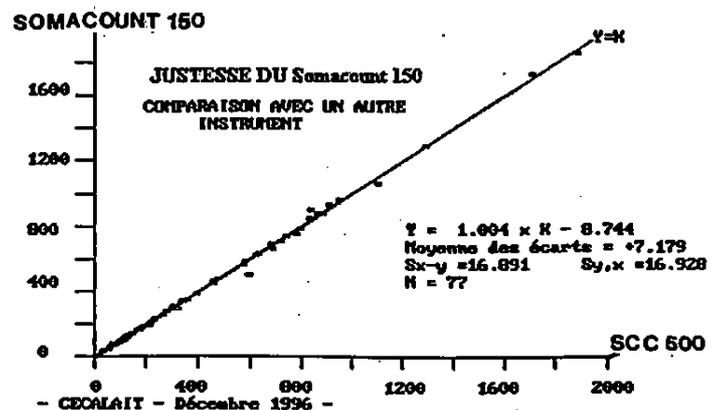
Pour l'ensemble des essais, les biais moyens par tranche de taux cellulaire restent faibles, dans les limites autorisées par les incertitudes cumulées des étalonnages et des comptages visuels (cf tableaux 2 et 3). Ils apparaissent notamment compatibles à la fois avec les besoins du paiement du lait et ceux du contrôle laitier.

En outre, lors de l'essai 1, les échantillons ont été analysés dans les mêmes conditions sur le Somacount 150 et sur des Fossomatic 400 et 5000 (Foss) ; sur le Somacount 150 et un SCC 500 (PERSTORP / ANADIS - FOSS), lors de l'essai 2. La comparaison des résultats obtenus sur ces différents appareils montre une étroite concordance sur la plage de calibrage. La figure 1 en donne un exemple, pour la comparaison des appareils Somacount 150 et SCC 500

Tableau 3 : Justesse du Somacount 150 pour les comptages inférieurs à 1 000 000 - Essais 1 et 2

ESSAI 1					
Etendue	n	Moyenne	\bar{d}	Sd	+/- I
0 à 100	34	58	- 9.9	19.1	+/- 38.2
0 à 200	56 (54)	93 (92)	- 7.8 (- 8.6)	26.9 (20.0)	+/- 53.8 (+/- 40.0)
100 à 300	32 (30)	173 (178)	- 2.9 (- 4.1)	31.2 (20.4)	+/- 62.4 (+/- 40.8)
200 à 400	17	301	+ 3.2	19.0	+/- 38.0
300 à 600	15	428	+ 2.9	24.9	+/- 49.8
400 à 600	8	491	- 1.2	27.8	+/- 55.9
600 à 1000	12 (10)	693 (680)	+ 8.6 (+ 4.1)	32.7 (22.1)	+/- 65.4 (+/- 44.2)
ESSAI 2					
0 à 100	16	73	+ 5.3	14.6	+/- 29.2
0 à 200	38	108	+ 0.2	15.4	+/- 30.8
100 à 300	31	166	- 3.5	18.8	+/- 37.6
200 à 400	15 (14)	287 (281)	- 10.4 (- 6.6)	29.1 (26.1)	+/- 58.2 (+/- 52.2)
300 à 600	13 (12)	435 (441)	- 2.7 (+ 2.3)	32.5 (28.1)	+/- 65.0 (+/- 56.2)
400 à 600	7	508	+ 12.4	25.9	+/- 51.8
600 à 1000	13 (10)	782 (711)	+ 13.4 (+ 8.6)	37.6 (20.3)	+/- 75.2 (+/- 40.6)

Figure 1 : justesse du Somacount 150 : comparaison avec le SCC 500



CONCLUSION

Le Somacount 150 donne satisfaction sur l'ensemble des points testés : linéarité, traçage, répétabilité et justesse. Il présente des performances de justesse (ajustement moyen et précision d'estimation) conformes aux besoins du paiement du lait et du contrôle laitier et tout à fait comparables aux autres instruments utilisés dans les laboratoires.

Références :

- *norme FIL 128:1985 Lait : définition et évaluation de la précision globale des méthodes indirectes d'analyse du lait - application au calibrage et au contrôle de qualité*
- *norme FIL 148A:1995. Lait : numération des cellules somatiques du lait.*

(Par Ph. TROSSAT et O. LERAY)