

EVALUATION

LE SOMATIC CELLS COUNTER 300

Le Somatic Cells Counter 300 (SCC 300) est un appareil automatique de dénombrement des cellules somatiques du lait. Il est fabriqué par la compagnie américaine BENTLEY INSTRUMENTS INCORPORATED et commercialisé en France par la société ANADIS INSTRUMENT.

PRINCIPE

L'appareil utilise le principe de la cytométrie de flux qui consiste en un comptage microscopique automatisé des cellules isolées et déplacées devant l'objectif du microscope par un liquide en écoulement laminaire.

DESCRIPTION

L'appareil en mode de fonctionnement automatique assure une cadence de 300 analyses par heure. Un autre appareil Bentley (SCC 500), basé exactement sur le même principe et utilisant les mêmes organes internes existe également pour des cadences plus élevées de l'ordre de 600 analyses par heure.

On y distingue quatre parties :

- le système de prélèvement du lait
- le système de mélange du lait à une solution tamponnée de bromure d'éthidium et de transfert de la suspension colorée dans la cellule à circulation.
- le système de comptage microscopique par fluorescence à 640 nm, après excitation par un faisceau laser à 543 nm.
- le système de pilotage de l'instrument et de traitement du signal (micro-ordinateur).

LES ESSAIS

Ils ont été menés au laboratoire de physico-chimie de CECALAIT pendant trois semaines en Novembre 1992.

Ils ont porté sur les points suivants :

- évaluation de la contamination entre échantillons,
- mesure de l'influence du type de conservateur,
- évaluation de la linéarité,
- évaluation de la répétabilité,
- évaluation de la justesse.

Ces points ont été étudiés selon des procédures en accord avec les normes FIL 128:1985 et FIL 141:1991.

① EVALUATION DE LA CONTAMINATION ENTRE ECHANTILLONS

Ce critère analytique a été évalué en mode d'analyse automatique et en mode manuel, c'est à dire sans l'agitateur de l'appareil.

Chaque essai a donné lieu à l'analyse d'un même lait et d'eau distillée selon la séquence lait-lait-eau-eau répétée vingt fois. Le taux de contamination (t_c) a été estimé à différents niveaux de taux cellulaires (600, 1300 et $1800 \cdot 10^3$ cellules/ml) par la formule suivante :

$$t_c = ((S(\text{eau } 1) - S(\text{eau } 2)) / S(\text{lait } 2)) \times 100$$

Les essais en mode manuel ont montré une absence totale d'effet de rémanence entre deux échantillons successifs ($t_c = 0\%$), ce qui témoigne d'un rinçage efficace du circuit de liquide.

Le mode automatique présente par contre un taux de contamination significatif résultant du transfert de lait d'un échantillon à l'autre par l'agitateur automatique. Avec des flacons de 30 ml, le taux de contamination est toujours apparu inférieur à 1%, qui est le taux limite toléré par le paiement du lait et le contrôle laitier pour la détermination de la composition TB-TP avec des appareils infra-rouge.

② INFLUENCE DU CONSERVATEUR

Quatre modes de conservation ont été comparés :

- absence de conservateur et conservation à 4°C
- dichromate de potassium à 0,1% à 4°C
- bronopol à 0,02% à 4°C.
- bronopol à 0,02% à 20°C.

On observe un effet significatif et marqué entre lait cru et lait additionné de conservateur (dichromate ou bronopol). Les résultats sont décalés proportionnellement aux taux cellulaires, de l'ordre de -7 à -10% pour les laits crus par rapport aux laits avec conservateur.

Ce constat imposera d'effectuer les calibrages avec des laits usant du même mode de conservation que les échantillons de routine.

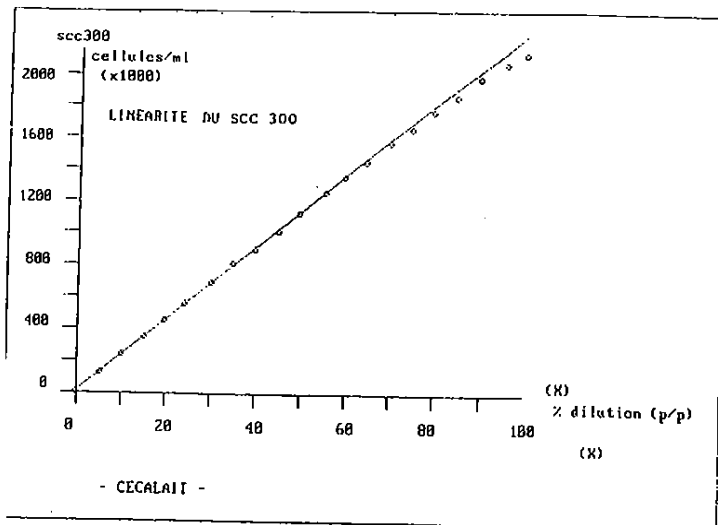
Les laboratoires interprofessionnels analysant des laits de "paiement", sans conservateur, et des laits du contrôle laitier, avec conservateur, devront tenir compte de ce phénomène.

③ LINEARITE

Le SCC 300 peut être considéré comme linéaire sur la plage de 0 à 1 000 000 de cellules/ml. Il présente une légère courbure de la réponse qui, compte tenu de l'étalonnage entre 200 000 et 800 000 cellules/ml, ne devient apparente qu'au-delà de 1 000 000 de cellules/ml (cf Fig. 1).

Les biais à la linéarité constatés de -25 000 à 1 500 000 cellules/ml, de -50 000 à 2 000 000 de cellules/ml et de -100 000 à 2 200 000 cellules/ml restent masqués dans la pratique par l'erreur de répétabilité de la méthode.

Fig. 1 : linéarité du SCC 300 : évaluation sur les moyennes de 4 répétitions



REPETABILITE

L'appareil montre une bonne répétabilité. Testée en mode manuel (absence d'effet de contamination) ou en mode automatique (voir tableau 1), la valeur de répétabilité (r) augmente en valeur absolue avec les taux cellulaires. Mais l'écart-type de répétabilité relatif reste toujours inférieur aux 5% spécifiés par la FIL, avec une valeur moyenne proche de 2,5%.

Tableau 1 : résultats de répétabilité - mode automatique - en milliers

Etendue x1000	n	moyenne	Sr	Sr %	r
0 à 350	17	196	4,15	2,1	12
350 à 800	33	532	12,51	2,4	35
800 à 1500	17	1186	21,98	1,9	62
500 à 2000	5	1674	41,31	2,5	116
0 à 2000	72	680	17,56	2,6	49

n : nombre d'échantillons pris en compte en quadruples ou en doubles

Sr : écart-type de répétabilité

$Sr\%$: écart-type de répétabilité relatif

r : estimation de la répétabilité

JUSTESSE

Elle a été testée sur 83 laits individuels de vache, issus de 5 élevages du Jura sur une plage de taux allant de 0 à 2 600 000 cellules/ml. La justesse a pu être appréciée dans sa globalité et par tranche de taux au moyen des moyennes et des écarts-type des écarts (appareil-référence). L'appareil a été calibré à l'aide d'échantillons à teneurs garanties en cellules, préparés par CECALAIT. Les laits ont été analysés en double sur l'appareil et en simple par la méthode de référence (FIL 148:1991).

Le tableau 2 présente les écarts-type résiduels et les précisions d'estimation (intervalles de confiance) par tranche de taux de 500 000.

Tableau 2 : tableau de la justesse (unités : milliers de cellules/ml)

Etendue x1000	n	moyenne	d	Sd	+/- I
0 à 500	32	285	+4,6 NS	25,4	+/-52
500 à 1000	22 * 21	672 682	+18,6 * +13,1 NS	39,4 30,3	+/-63
1000 à 1500	13 * 10	1207 1196	+55,5 * +18,2 NS	74,8 47,6	+/-107
1500 à 2200	9	1880	+13,8 NS	41,1	+/-95
2200 à 2600	7	2464	-64,8 NS	198,4	+/-485
0 à 2200	76 * 72	744 727	+18,5 ** +10,1 **	49,0 32,1	

NS : non significatif

* : significatif au seuil de 5%

** : significatif au seuil de 1%

n : nombre d'échantillons

d et Sd : moyenne et écart-type des écarts (appareil-référence)

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

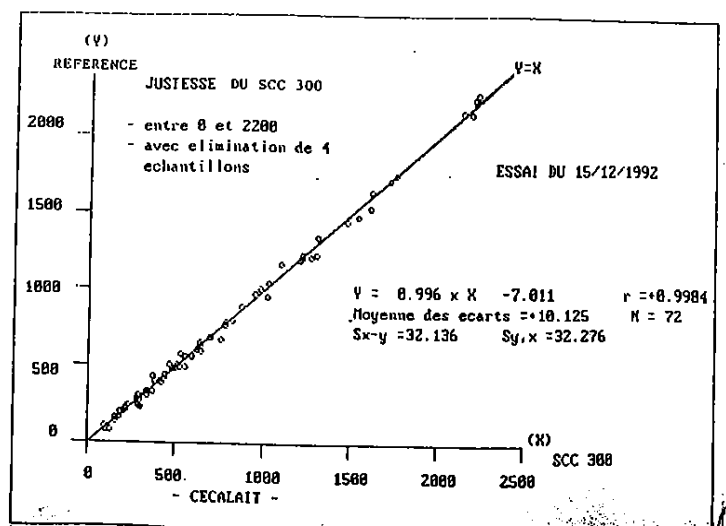
* : calculs avec élimination des points anormaux

La précision d'estimation reste du même ordre de grandeur de 0 jusqu'à 2 200 000, avec des écarts-type des écarts :

- d'environ 30 000 entre 0 et 1 000 000 de cellules/ml

- de 40 à 50 000 entre 1 000 000 et 2 200 000 (cf Fig. 3).

Fig. 3 : justesse jusqu'à 2 200 000 cellules/ml



Au delà, l'estimation de la justesse devient plus délicate en raison des difficultés de comptage visuel des laits fortement chargés (méthode de référence).

La droite de régression linéaire, calculée entre 0 et 2 000 000 montre un bon ajustement de l'étalonnage.

$$(REF.) = 0,9958 \times (SCC300) - 7$$

$$\text{avec } d = + 10125; \quad Sd = 32136; \quad Sy,x = 32276$$

ou en log base 10

$$\log(REF.) = 1,062 \times \log(SCC300) - 0,1025$$

$$\text{avec } d\log = + 0,010; \quad Sd\log = 0,036$$

Le SCC300 fournit une précision d'estimation comparable aux appareils déjà utilisés dans le cadre du paiement du lait et du contrôle laitier. L'étalonnage au moyen des échantillons étalons CECALAIT déjà utilisés au niveau national ne pose pas de problème.

CONCLUSION GENERALE

Testé sur la plage de taux allant de 0 à 2 200 000 cellules/ml, le Somatic Cells Counter 300 donne satisfaction sur les différents critères de précision testés. Au-delà, les résultats perdent beaucoup en précision. Son utilisation aux fins de paiement du lait ne doit, en principe pas poser de problème particulier entre 0 et 2 000 000 de cellules/ml.