

EVALUATION DU BACTOCOUNT IBC-M

POUR LA NUMERATION DES CELLULES SOMATIQUES DANS LE LAIT

Le BactoCount IBC-M est un appareil semi-automatique de numération des bactéries dans le lait cru fabriqué par la société BENTLEY INSTRUMENTS (US) et distribué en France par la société Bentley Instruments SARL. Il fonctionne sur le principe de la cytométrie de flux avec une détection par microscopie épifluorescente.

Il permet également de dénombrer les cellules somatiques présentes dans le lait. L'échantillon est prélevé et mélangé manuellement avec un réactif d'incubation constitué d'une solution tamponnée de bromure d'éthidium. Ce réactif va permettre de marquer le noyau des cellules somatiques. Le mélange est ensuite incubé pendant 10 minutes à 50°C. Puis, la solution est placée dans l'appareil pour être injectée dans un fluide vecteur en écoulement laminaire dans un capillaire. Les cellules somatiques séparées par le flux sont exposées au faisceau d'un laser au niveau d'un objectif microscopique. Les impulsions lumineuses, émises par fluorescence par le colorant fixé par les cellules somatiques, sont filtrées et amplifiées au niveau d'un photomultiplicateur, comptabilisées et converties en ISC/ml. Un calibrage permet de transformer les ISC/ml en cellules/ml.

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

1/- LES ESSAIS

Les essais d'évaluation ont été réalisés au laboratoire de physico-chimie et microbiologie de CECALAIT durant le mois d'avril 2008 et ont concerné l'évaluation de la linéarité, répétabilité et de la justesse.

Normes prises en référence: ISO 13366/FIL 148 et FIL 128

2/- LES ECHANTILLONS

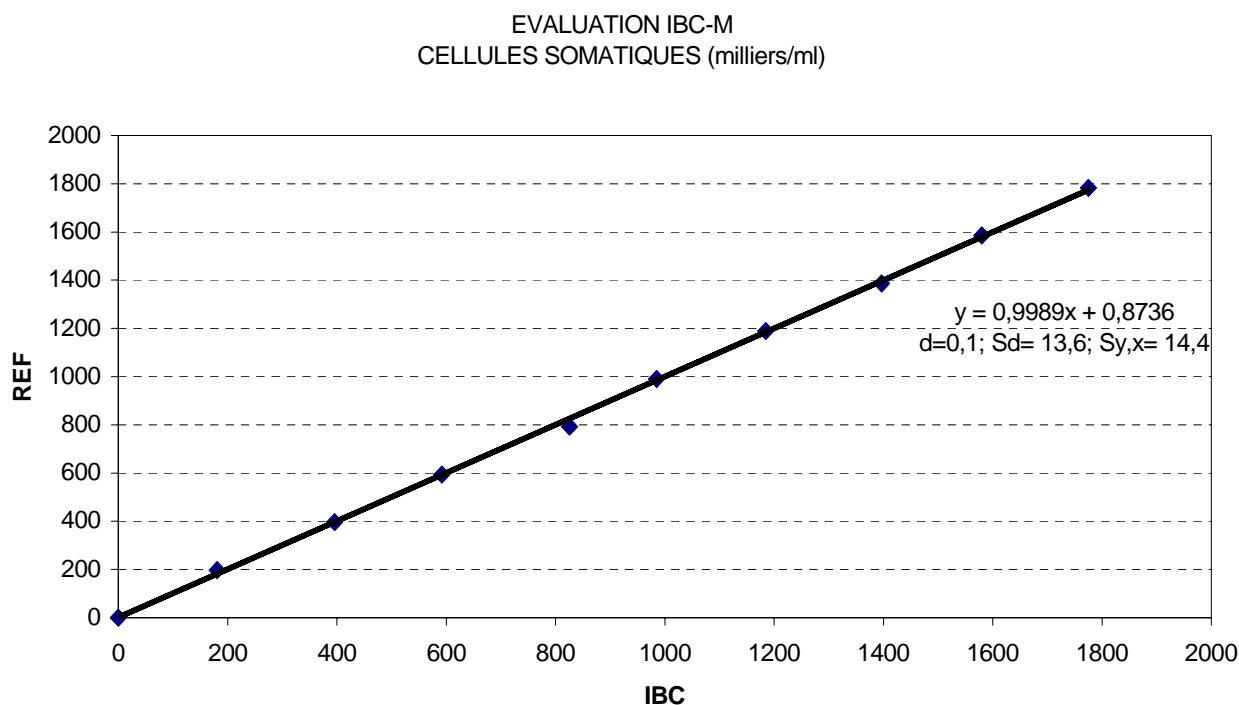
Environ 120 échantillons de laits individuels de vache provenant de 2 élevages du Jura ont été

prélevés au moment de la traite puis conservés avec du Bronopol (0.02 % final). Les échantillons ont été divisés en plusieurs séries et stockés à 4°C avant analyse.

3/- CALIBRAGE DE L'INSTRUMENT

L'IBC-M a été préalablement calibré par le constructeur entre 0 et 1 800 000 cellules/ml à l'aide de 10 échantillons commerciaux produits par CECALAIT.

Le graphique 1 représente les résultats obtenus :



Graphique 1 : Calibrage de l'IBC-M à partir d'échantillons commercialisés par Cecalait

d et Sd: moyenne et écart-type des écarts (appareil – référence) ; Sy,x: écart-type résiduel de la régression linéaire REF vs IBC-M

On remarque que l'appareil est linéaire dans cette étendue de mesure, la moyenne des écarts (d) est égale à 100 cellules/ml (< 0.1%), l'écart-type résiduel (Sy,x) est égal à 14 000/ml, la pente est égale à 0.999 et l'ordonnée à l'origine égale à 1000/ml. Ces paramètres sont conformes aux exigences du CNIEL fixant les limites respectivement à 5%, 15 000/ml et 1.000 +/-5%.

4/- REPETABILITE

La répétabilité a été évaluée par l'analyse, en doubles consécutifs, d'une série d'échantillons réalisés en paragraphe 2/

Les résultats sont consignés dans les tableaux 1 et 2 ci-dessous :

Etendue (10 ³ /ml)	N	M (10 ³ /ml)	Sr (10 ³ /ml)	Sr (%)	r (10 ³ /ml)
0-2000	123	111	1,9	1,7	5,3
1-2000	96	142	2,1	1,5	5,8
1-100	56	37	1,7	4,7	4,7
1-300	86	81,6	1,8	2,2	5,0
1-400	89	91	1,9	2,0	5,3
1-500	91	99	1,9	2,0	5,3
401-2000	7	789	4,3	0,5	11,9

Tableau 1 : Critères de répétabilité de l'IBC-M

Etendue (10 ^E 3/ml)	N	M (10 ^E 3/ml)	Sr (10 ^E 3/ml)	Sr (%)	r (10 ^E 3/ml)
1-100	56	37	1,7	4,7	4,7
100-200	21	139	1,8	1,3	5,1
200-400	12	262	2,4	0,9	6,6
400-750	4	508	3,3	0,7	9,2
750-1500	2	767	4,2	0,5	11,6
1500-2000	1	1958	6,9	0,4	19,2

Tableau 2 : Critères de répétabilité de l'IBC-M (classes Contrôle laitier)

N : nombre de résultats; M : moyenne des valeurs; Sr (Sr%) : écart-type de répétabilité absolu (relatif); r : écart maximal de répétabilité dans 95% des cas

Sur la gamme de 0 à 2 000 000 cellules/ml (moyenne 111 000/ml), l'IBC-M présente une répétabilité de 1,7% conforme aux spécifications de la FIL 148 fixant à 5% la limite concernant l'écart-type de répétabilité relatif. Il satisfait également aux spécifications du constructeur concernant le SCC150 fixés à 5% (< 100 000/ml), à 3% (< 300 000/ml) et 2% (< 500 000/ml). Ces résultats sont également conformes aux spécifications du CNIEL fixant à 5% la limite concernant l'écart-type de répétabilité.

5/- JUSTESSE

Une centaine de laits individuels de vache ont été sélectionnés parmi les 120 échantillons utilisés en paragraphe 2/ et ont été analysés en simple par numération microscopique conformément à la méthode ISO 13366 / FIL 148 A. En cas de résidu trop important après régression, un deuxième comptage a été effectué.

Le tableau 3 ci-dessous récapitule les résultats obtenus :

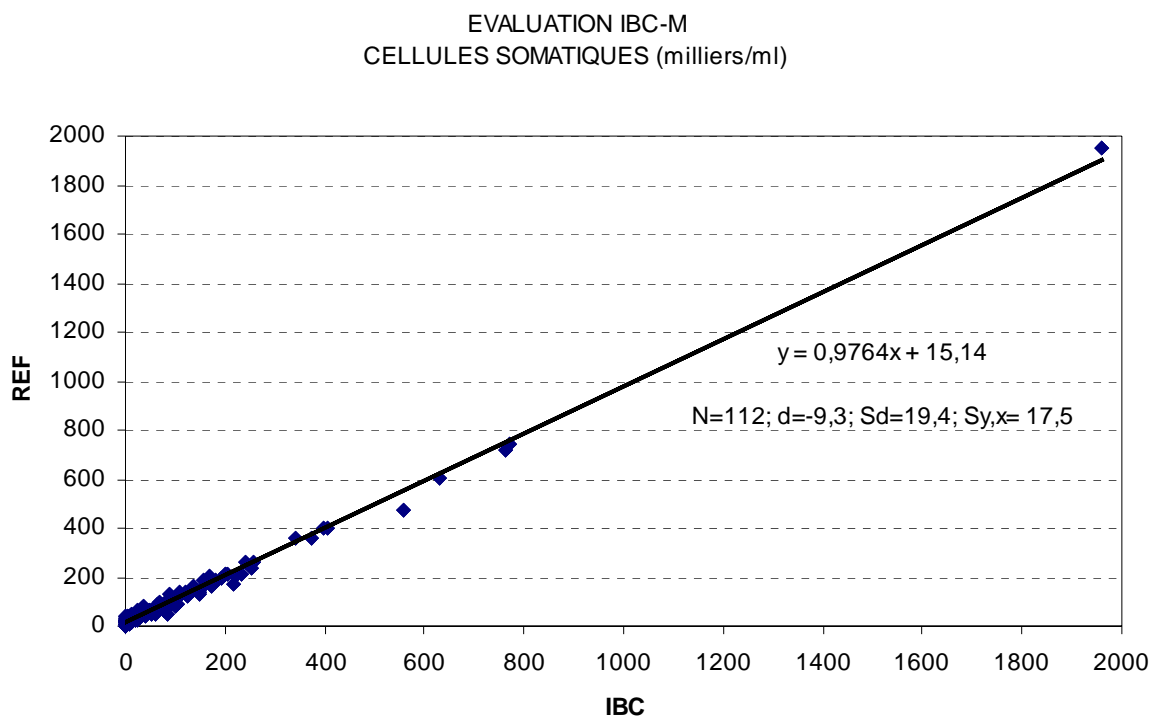
Etendue de mesure (10 ³ /ml)	N	M (10 ³ /ml)	d (10 ³ /ml)	Sd (10 ³ /ml)	Sy,x (10 ³ /ml)
0-2000	112	127	-9,3	19,4	17,5
0-100	72	42	-13,8	14,4	12,0
0-400	107	91	-11,4	16,2	14,9
401-2000	5	901	35,4	28,1	24,3
100-2000	40	281	-1,1	24,1	22,6

Tableau 3 : Critères justesse de l'IBC-M

N : nombre de résultats, m : moyenne des valeurs référence, d et Sd: moyenne et écart-type des écarts (appareil – référence) ; Sy,x: écart-type résiduel de la régression linéaire REF vs IBC-M

Le graphique 2 ci-dessous représente la relation entre l'IBC-M et la numération microscopique et reprend

les paramètres de la régression linéaire REF vs IBC-M.



Graphique 2 : Relation entre les résultats cellules somatiques IBC-M et numération microscopique (ISO 13366 / FIL 148)

N : nombre de résultats, d et Sd: moyenne et écart-type des écarts (appareil – référence); $S_{y,x}$: écart-type résiduel de la régression linéaire REF vs IBC-M

On remarque que, globalement, pour une étendue 0 - 2 000 000/ml, l'écart-moyen (d) est voisin de -10 000/ml et l'écart-type des écarts (Sd) d'environ 19 000/ml. La pente de régression linéaire, égale à 0,976 est voisine de 1 et l'ordonnée à l'origine est égale à 15 000/ml.

cellules somatiques satisfait globalement aux prescriptions en répétabilité, linéarité et en justesse annoncées par le fabricant ainsi que les prescriptions en matière de répétabilité et étalonnage utilisées dans le cadre de l'évaluation des instruments pour autorisation d'emploi à des fins de paiement du lait à la qualité en France et pour le contrôle laitier.

CONCLUSION GENERALE

Le BactoCount IBC-M évalué à la demande de la société BENTLEY pour la numération des

Ph. TROSSAT et X. QUERVEL

Bentley Instruments SARL
14 rue d'Holbach
59000 Lille – France
pbrouin@bentleyinstruments.com