

## EVALUATION DU COMPTEUR DE CELLULES BENTLEY SOMACOUNT FCM™ SUR LAIT DE BREBIS ET CHEVRE

Le Somacount FCM est un automate de dénombrement des cellules somatiques du lait fabriqué et commercialisé par la société Bentley Instruments. Il fonctionne selon la méthode fluoro-opto-électronique avec le principe suivant : dans un premier temps, la prise d'essai est mélangée à un colorant (solution détergente tamponnée de bromure d'éthydiu) de manière à disperser les globules gras et colorer le noyau des cellules somatiques. Puis un aliquote est injecté dans un liquide de gainage en écoulement laminaire. Les cellules marquées sont séparées par le flux et sont exposées au faisceau d'un laser et émettent en conséquence un rayonnement fluorescent. Les impulsions lumineuses émises par les cellules somatiques sont alors détectées et amplifiées à l'aide d'un tube photomultiplicateur. Les impulsions, dont les intensités sont supérieures à un seuil, sont comptabilisées et converties en concentration cellulaire par l'équation de calibrage.

L'appareil se compose de deux unités de comptage indépendantes fonctionnant en alternance. L'appareil est asservi à un PC qui assure le traitement du signal.

### Les essais:

Les essais d'évaluation ont été menés au laboratoire de physico-chimie d'Actilait-Cecalait (analyses de référence et analyses instrumentales) de décembre 2009 à février 2010. Ils ont porté sur l'évaluation de la répétabilité et de la justesse.

Les critères d'appréciation des paramètres estimés sont issus, soit de la norme NF ISO 13366-2/FIL 148 : 2007 soit du manuel CNIEL/IE d'utilisation des compteurs de cellules dans le cadre du paiement du lait et du contrôle laitier en France (version en vigueur).

Le paramétrage de l'appareil était le suivant :

- Cadence 500 échantillons / heure ;
- Correction de contamination nulle ;
- Fonctionnement en mode combiné avec l'analyseur infra-rouge Bentley FTS (assistance de purge).

### A-LAIT DE BREBIS

#### A1- Echantillons

Les essais ont été réalisés à partir de 100 échantillons de lait de troupeau en provenance de la région de Roquefort (12). Les échantillons ont été additionnés de bronopol à 0,02% final.

#### A2- Répétabilité

##### *A2.1- Procédure*

La répétabilité de l'appareil a été évaluée sur l'ensemble des échantillons. Les déterminations ont été effectuées en mode d'analyse automatique en doublant chaque série de 10 échantillons selon la séquence suivante : (Série 1 rép 1 - Série 1 rép 2 - Série 2 rép 1 - Série 2 rép 2 ... Série n rép 1 - Série n rép 2). Un lait témoin a été intercalé tous les 30 échantillons afin de vérifier la stabilité de l'analyseur.

Une partie des échantillons a également été analysée par le compteur de cellules Bentley Somacount 150 (SCC 150).

##### *A2.2- Résultats*

Le tableau suivant récapitule les résultats obtenus :

	n	min	Max	M	Sx	Sr	Sr (%)	r
<b>CANAL BLEU (B)</b>	100	103	1788	540	314	15,2	2,8	42
<b>CANAL ROUGE (R)</b>	100	105	1807	555	323	13,4	2,4	37
<b>SCC 150</b>	79	123	1808	554	330	9,5	1,7	26

**Tableau 1** : critères de répétabilité du FCM sur échantillons de lait de brebis

*n* : nombre de résultats ; *min* et *max* : valeur minimum et maximum ; *M* et *Sx* : moyenne et écart-type des résultats ; *Sr* et *Sr%* : écart-type de répétabilité absolu et relatif ; *r* : écart maximal de répétabilité dans 95% des cas

### A2.3- Conclusion

En l'absence d'exigences réglementaires pour le paiement du lait à la qualité pour ce type de lait, on remarque que les écarts-types de répétabilité relatifs obtenus sont conformes aux recommandations de la norme NF EN ISO 13366-2/FIL 148 : 2007 fixant une limite maximale de 4% (niveau moyen  $450.10^E03/ml$ ) et aux spécifications du constructeur (< 5%).

### A3- Evaluation de la justesse

#### A3.1- Procédure

La justesse de l'appareil a été évaluée sur une partie des échantillons. Les dosages ont été réalisés conformément à l'évaluation de la répétabilité (cf B2.1). L'évaluation a porté sur les valeurs obtenues après calibrage de l'instrument à l'aide des ETG (lait de vache) commercialisés par Actilait-Cecalait.

La méthode de référence utilisée pour le dénombrement des cellules par comptage sous microscope est issue de la norme NF EN ISO 13366-1/FIL 148 : 2007.

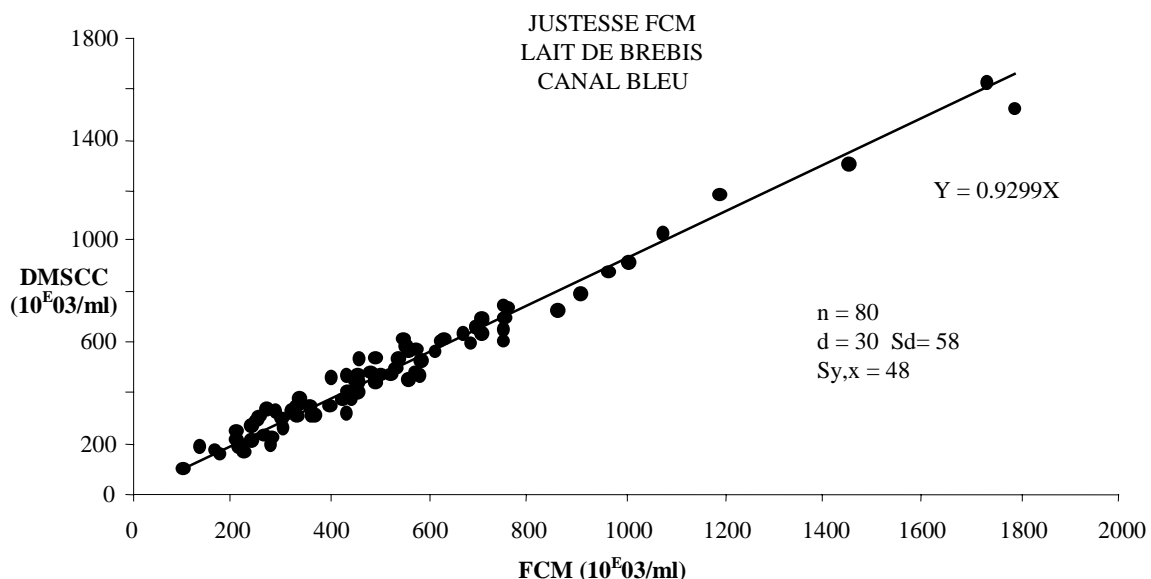
#### A3.2- Résultats

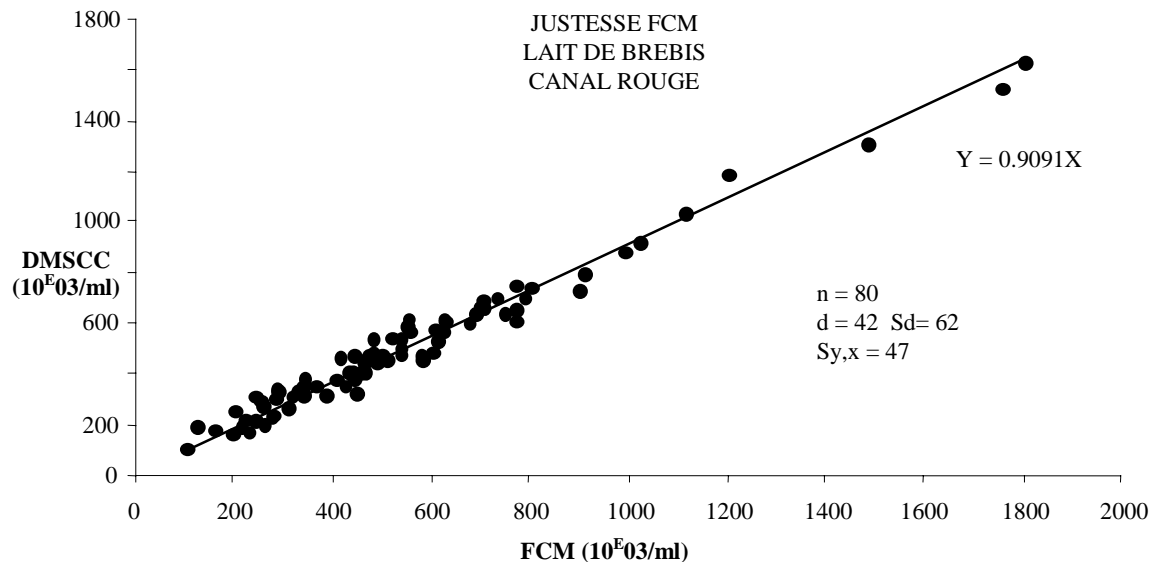
Le tableau et les figures suivants récapitulent les résultats obtenus.

	CANAL BLEU	CANAL ROUGE	SCC 150	COMPARAISON CANAL BLEU / SCC 150
<b>n</b>	80		60	60
<b>min</b>	103		172	123
<b>max</b>	1625		1625	1808
<b>Y (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	507		532	559
<b>X (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	537	550	559	555
<b>S<sub>y</sub> (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	284		292	338
<b>d (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	30	42	28	-4
<b>Sd (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	58	62	65	19
<b>S<sub>y,x</sub></b>	46	46	43	19
<b>S<sub>y,x</sub> (%)</b>	9,1	9,0	8,2	3,4
<b>b</b>	0,887	0,868	0,856	1,014
<b>a</b>	31	30	53	-4
<b>S<sub>y,x</sub></b>	48	47	49	19
<b>S<sub>y,x'</sub> (%)</b>	9,4	9,3	9,2	3,4
<b>b'</b>	0,930	0,909	0,926	1,009

**Tableau 2** : critères de justesse du FCM sur échantillons de lait de brebis

*n, min, max* : nombre de résultats, valeur minimum et maximum ; *Y,X* : moyenne des résultats par méthode de référence et instrumentale ; *S<sub>y</sub>* : écart-type des résultats par méthode de référence ; *d, Sd* : moyenne et écart-type des écarts ; *S<sub>y,x</sub>(S<sub>y,x</sub>%)* : écart-type résiduel absolu et relatif ; *b, a* : pente et ordonnée à l'origine de la régression linéaire ; *S<sub>y,x'</sub> (S<sub>y,x'</sub>%)* : écart-type résiduel absolu et relatif de la régression forcée par zéro ; *b'* : pente de la régression linéaire forcée par zéro





Figures 1 et 2 : Relation entre les résultats FCM et référence sur échantillons de lait de brebis (régressions forcées par zéro)

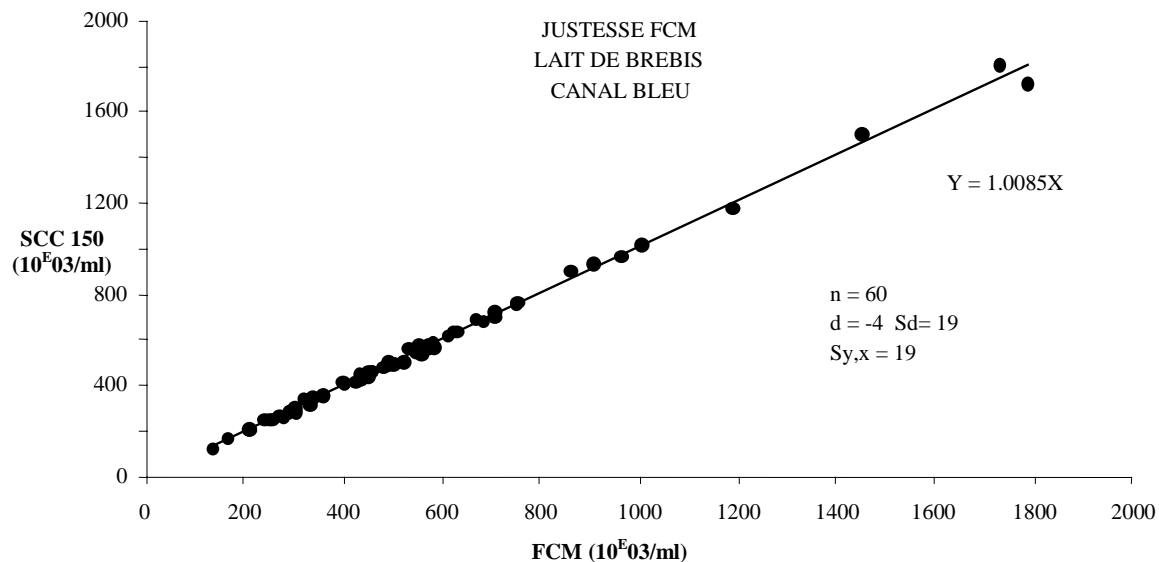


Figure 3 : Relation entre les résultats FCM et SCC 150 sur échantillons de lait de brebis (régressions forcées par zéro)

On remarque que les moyennes et écarts-types des écarts par rapport à la méthode de référence sont équivalents entre les deux unités et respectivement d'environ  $-35.10^3/\text{ml}$  et  $60.10^3/\text{ml}$ . Les pentes sont significativement différentes de 1 ( $P=1\%$ ). Les écarts-types résiduels sont équivalents et d'environ  $46.10^3/\text{ml}$  (relatif 9,3%). Les résultats du FCM sont très proches de ceux obtenus avec le SCC 150 avec une pente non significativement différente de 1, une moyenne des écarts de  $4.10^3/\text{ml}$  et un écart-type des écarts de  $19.10^3/\text{ml}$ .

### A.3.3- Conclusion

En l'absence d'exigences réglementaires pour le paiement et normatives pour ce type de lait, on peut remarquer que la pente de régression obtenue lors de l'évaluation de la justesse est significativement différente de 1,00. La nature des cellules somatiques du lait de brebis peut vraisemblablement être à l'origine de cet écart, les appareils étant calibrés sur des ETG de lait de vache. On peut également remarquer que les résultats de justesse obtenus (pente de régression, écart-type résiduel et biais moyen) sont très proches de ceux de l'étude du programme européen FAIR (1997 à 1999) sur ce type de lait et très proches des résultats obtenus sur le Somacount 150.

## B-LAIT DE CHEVRE

### B1- Echantillons

Les essais ont été réalisés à partir de 90 échantillons environ de lait de troupeau en provenance de la région Poitou-Charentes (17).

**B2- Répétabilité**

*B2.1- Procédure*

La répétabilité de l'appareil a été évaluée sur l'ensemble des échantillons. Les déterminations ont été effectuées en mode d'analyse automatique en doublant chaque série de 10 échantillons selon la séquence suivante : (Série 1 rép 1 - Série 1 rép 2 - Série 2 rép 1 - Série 2 rép 2 ... Série n rép 1 - Série n rép 2). Un lait témoin a été intercalé tous les 30 échantillons afin de vérifier la stabilité de l'analyseur. De par le fonctionnement en alternance des 2 unités, chaque unité a été évaluée sur la moitié des échantillons.

Les échantillons ont également été analysés par le compteur de cellules Bentley Somacount (SCC 150).

*B2.2- Résultats*

Le tableau suivant récapitule les résultats obtenus :

	<b>n</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>M</b>	<b>Sx</b>	<b>Sr</b>	<b>Sr (%)</b>	<b>r</b>
<b>GLOBAL</b>	89	415	2713	1479	499	43,4	2,9	120
<b>CANAL BLEU</b>	45	668	2601	1476	507	48,8	3,3	135
<b>CANAL ROUGE</b>	44	415	2713	1482	497	37,0	2,5	102
<b>SCC 150</b>	89	415	2668	1434	461	16,2	1,1	45

**Tableau 3** : critères de répétabilité du FCM sur échantillons de lait de chèvre

*n* : nombre de résultats ; *min* et *max* : valeur minimum et maximum ; *M* et *Sx* : moyenne et écart-type des résultats ; *Sr* et *Sr%* : écart-type de répétabilité absolu et relatif ; *r* : écart maximal de répétabilité dans 95% des cas.

*B2.3- Conclusion*

En l'absence d'exigences réglementaires pour le paiement pour ce type de lait, on remarque que l'écart-type de répétabilité relatif global obtenu est conforme aux recommandations de la norme NF EN ISO 13366-2/FIL 148 : 2007 fixant une limite maximale de 3% (niveau moyen 1500.10<sup>E</sup>03/ml) et aux spécifications du constructeur (< 5%).

**B3- Evaluation de la justesse**

*B3.1- Procédure*

La justesse de l'appareil a été évaluée sur 71 échantillons (sur les 80 initialement sélectionnées, 9 n'ont pu être lus par la méthode de référence). Les déterminations ont été réalisées conformément à l'évaluation de la répétabilité (cf C2.1). L'évaluation a porté sur les valeurs obtenues après calibrage de l'instrument à l'aide des ETG (lait de vache) commercialisés par Actilait-Cecalait.

La méthode de référence utilisée pour le dénombrement des cellules par comptage sous microscope est issue de la norme NF EN ISO 13366-1/FIL 148 : 2007.

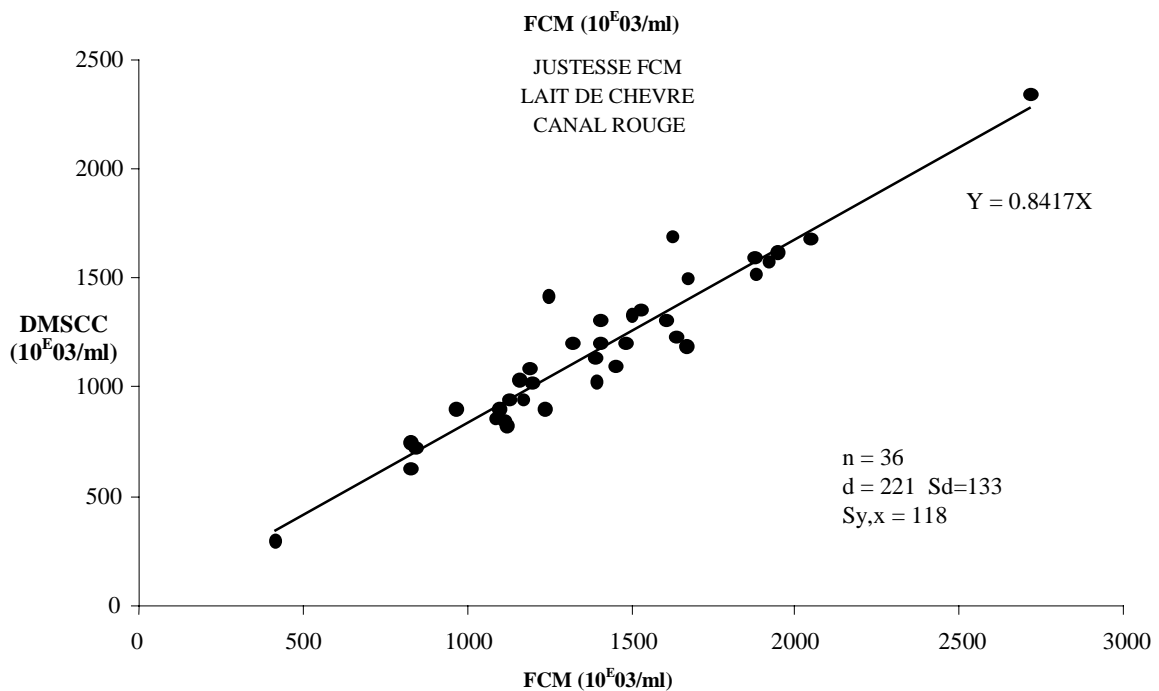
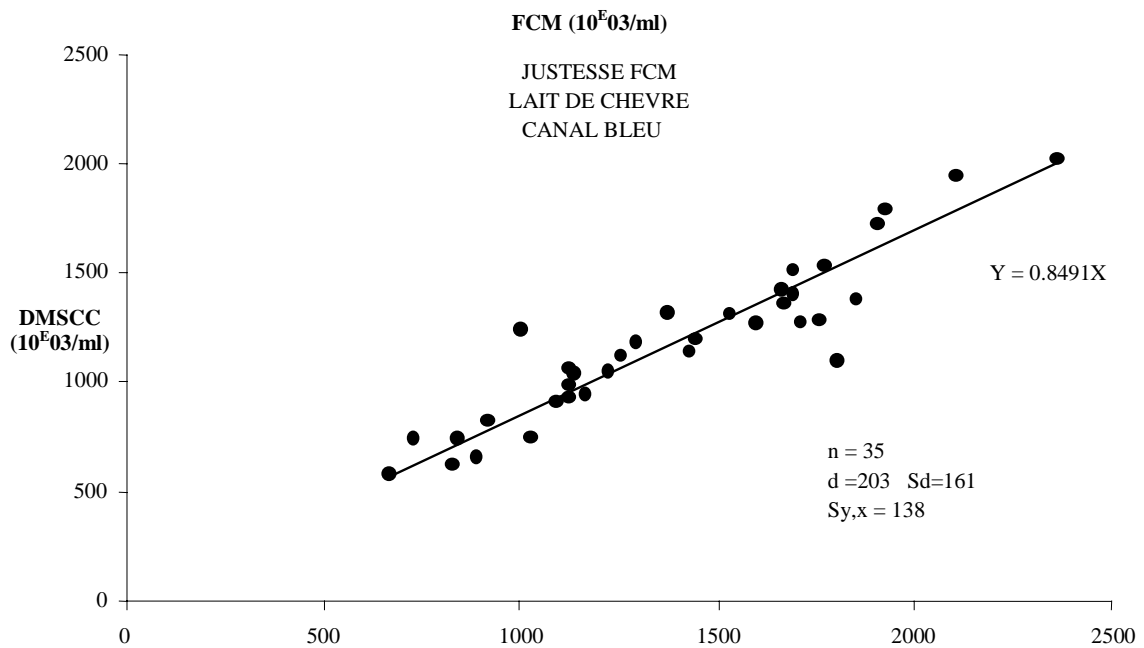
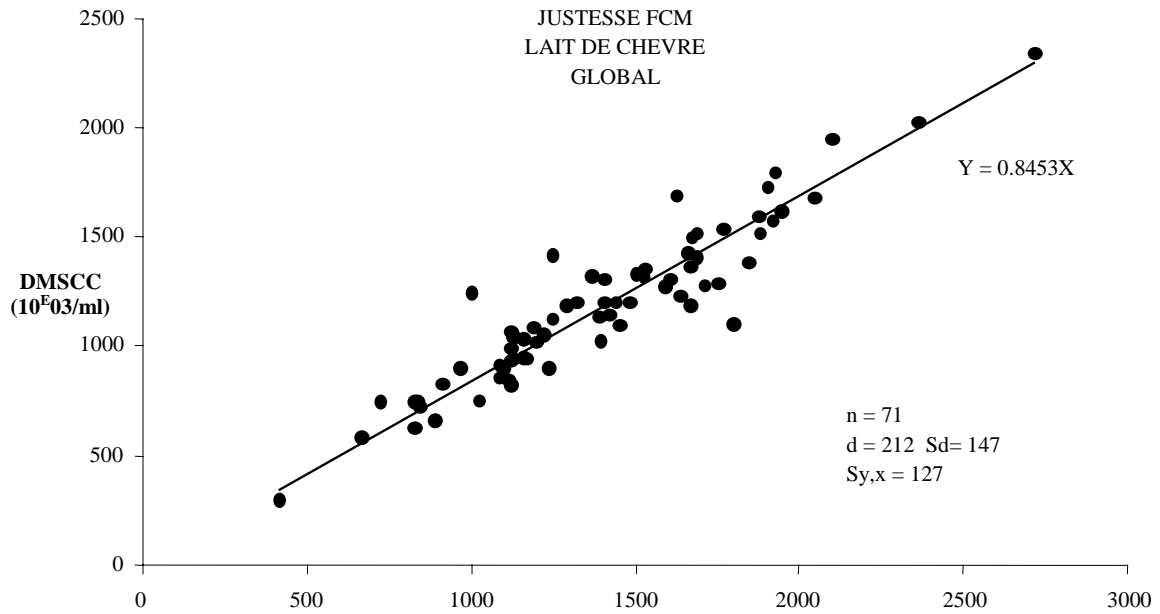
*B3.2- Résultats*

Le tableau et les figures suivants récapitulent les résultats obtenus.

	<b>GLOBAL</b>	<b>CANAL BLEU</b>	<b>CANAL ROUGE</b>	<b>SCC 150</b>	<b>COMPARAISON GLOBAL APPAREIL / SCC 150</b>
<b>n</b>	71	35	36	71	89
<b>min (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	293	588	293	293	415
<b>max (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	2339	2024	2339	2339	2668
<b>Y (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	1178	1186	1171	1178	1434
<b>X (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	1391	1389	1392	1344	1479
<b>Sy (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	366	359	379	366	461
<b>d (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	212	203	221	165	45
<b>Sd (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	147	161	133	124	111
<b>Sv,x (10<sup>E</sup>03/ml)</b>	127	138	118	113	100
<b>Sv,x (%)</b>	10,8	11,6	10,1	9,6	7,0
<b>b</b>	0,822	0,792	0,850	0,870	0,902
<b>a</b>	35	86	-13	9	99
<b>Sv,x</b>	127	138	117	113	104
<b>Sv,x' (%)</b>	10,8	11,6	10,0	9,6	7,2
<b>b'</b>	0,845	0,849	0,842	0,876	0,963

**Tableau 4** : critères de justesse du FCM sur échantillons de lait de chèvre

*n*, *min*, *max* : nombre de résultats, valeur minimum et maximum ; *Y*, *X* : moyenne des résultats par méthode de référence et instrumentale ; *Sy* : écart-type des résultats par méthode de référence ; *d*, *Sd* : moyenne et écart-type des écarts ; *Sy,x*(*Sy,x*%) : écart-type résiduel absolu et relatif ; *b*, *a* : pente et ordonnée à l'origine de la régression linéaire ; *Sy,x'* (*Sy,x'*%) : écart-type résiduel absolu et relatif de la régression forcée par zéro ; *b'* : pente de la régression linéaire forcée par zéro



Figures 4, 5 et 6 : Relation entre les résultats FCM et référence sur échantillons de lait de chèvre (régressions forcées par zéro)

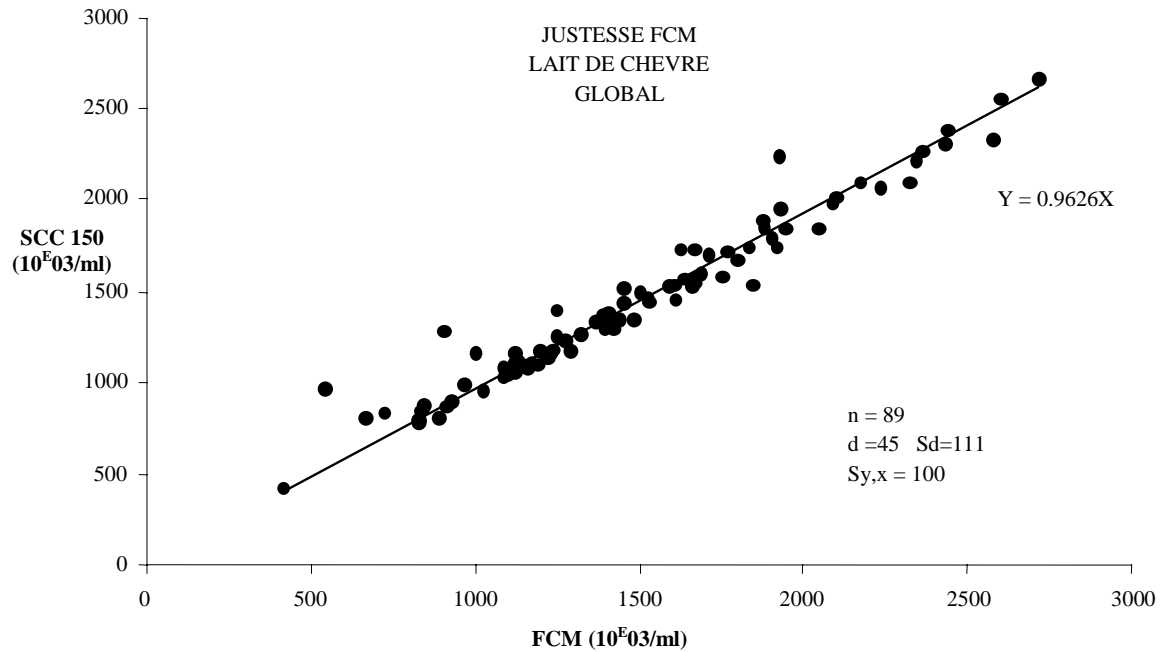


Figure 7 : Relation entre les résultats FCM et SCC 150 sur échantillons de lait de chèvre (régressions forcées par zéro)

On remarque que globalement la pente, égale à 0,845, est significativement différente de 1 (P=1%). L'écart-type résiduel de régression est égal à 127 (relatif 10,8%). Ces valeurs sont équivalentes aux valeurs obtenues avec le SCC 150.

Bien que portant sur deux sous-populations différentes, les échantillons analysés par les deux unités présentent des caractéristiques équivalentes (moyenne et écart-type voisins), les résultats et les performances obtenus par les 2 canaux sont donc comparables.

### B.3.3- Conclusion

En l'absence d'exigences réglementaires pour le paiement et normatives pour ce type de lait, on peut remarquer que la pente de régression obtenue lors de l'évaluation de la justesse est significativement différente de 1,00. La nature des cellules somatiques du lait de chèvre peut vraisemblablement être à l'origine de cet écart, les appareils étant calibrés sur des ETG de lait de vache. On peut également remarquer que les résultats de justesse obtenus (pente de régression, écart-type résiduel et biais moyen) sont très proches de ceux de l'étude du programme européen FAIR (1997 à 1999) sur ce type de lait.

D'après le rapport d'évaluation du compteur de cellules Bentley FCM™ lait de brebis et chèvre - X. QUERVEL et Ph. TROSSAT – Actilait / Cecalait – Avril 2010