

EVALUATION DU COMPTEUR DE CELLULES SOMATIQUES DELTA INSTRUMENTS SOMASCOPE

Le Somascope LFC est un appareil automatique de dénombrement de cellules somatiques dans le lait. Il est fabriqué par la société Delta Instruments (groupe Advanced, Pays-bas) et distribué en France par la société Humeau.

Cet instrument utilise une technique opto-fluoro-électronique. La prise d'essai est mélangée à un réactif colorant (DAPI) de manière à disperser les globules gras et à marquer les noyaux des cellules somatiques. Une partie aliquote du mélange est injectée, via une seringue d'injection, dans un liquide de gainage en écoulement laminaire dans un capillaire. Les cellules ayant fixées le marqueur, exposées au faisceau de LED, émettent une lumière de fluorescence jaune dirigée vers 2 détecteurs. Seules les impulsions, au dessus d'un seuil de discrimination fixe (en mV) et reçus par les 2 détecteurs, sont comptabilisées et traduites en terme de concentration cellulaire par l'équation d'étalonnage.

Cet appareil, piloté par un PC qui assure le traitement du signal, peut être associé à un analyseur infrarouge "Lactoscope" pour constituer le "Combiscope".



Les essais ont été menés au laboratoire de physico-chimie d'ACTALIA Cecalait (analyses de référence et mise en œuvre du SomaScope) de février à juin 2013. Après avoir effectués des essais sur la stabilité de l'appareil, la contamination entre échantillons, la linéarité et l'étalonnage, la répétabilité et la justesse sur lait de vache, lait de chèvre et lait de brebis ont été évaluées.

Une solution de nettoyage (solution aqueuse de Decon[®] à 4 %), un liquide de gainage (solution aqueuse de triton X100[®] à 0,1 %), et une solution colorante (kit réf S000070000) ont été nécessaires à ces essais.

L'appareil était configuré pour une cadence de 600 échantillons / heure et une correction de contamination nulle.

Les critères d'appréciation des paramètres estimés sont issus, soit de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3:2010, soit des manuels CNIEL/IE d'utilisation des compteurs de cellules somatiques dans le cadre du paiement du lait et du contrôle laitier en France (CNIEL PROC CE 04).

A. ESSAIS PRELIMINAIRES

A.1. Evaluation de la stabilité de l'appareil

Réalisée par l'analyse en mode automatique de lait toutes les 20 minutes, représentant 20 cycles de mesure, l'évaluation de la stabilité de l'appareil a été effectuée sur 3 niveaux de taux cellulaires à raison de 3 répétitions par niveau. Les critères de répétabilité et de reproductibilité ont été calculés pour chaque niveau.

Les résultats présentent des valeurs d'écart-type de reproductibilité (3,1 ; 2,2 et 2,1) en accord avec la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 (SR \leq 5 %).

A.2. Evaluation de la contamination entre échantillons

Ce critère a été évalué en mode d'analyse automatique, par l'analyse d'un même lait de vache et d'eau distillée selon la séquence: LAIT – LAIT - EAU - EAU répétée vingt fois sur 3 niveaux de taux cellulaire.

Les valeurs estimant les taux de contamination entre échantillons successifs sont en accords avec les spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 et dans le manuel CNIEL PROC CE 04 ($T_c \leq 2\%$).

A.3. Evaluation de la linéarité

Les échantillons ont été préparés à partir de rétentat et de filtrat de microfiltration (seuil de coupure $0,8\ \mu\text{m}$). Une gamme de 20 niveaux, régulièrement répartis de 0 à $2500 \cdot 10^3$ cellules/ml a été réalisée par pesée et les dilutions correspondantes ont été calculées par conversion à partir des masses volumiques.

Chaque niveau a fait l'objet de 5 répétitions effectuées en mode manuel. Le calcul du rapport A_r/A_t (A_r et A_t : amplitude des résidus et amplitude des taux respectivement) est égal à 2,54 % ce qui est au-delà des limites des spécifications de 2 % préconisées dans le document NF ISO 8196-3 / FIL 128-3. Cependant, cette valeur s'explique par une dispersion des résultats plutôt qu'un défaut de linéarité. Un test de F, comparatif entre régression linéaire et curviligne d'ordre 2, permet de confirmer cette analyse ($F_{obs} = 1,70 < F(0,95,18,63) = 1,77$ au risque 5 %).

La linéarité de l'instrument est satisfaisante pour la gamme 0- $2500 \cdot 10^3$ cellules/ml.

A.3. Evaluation de l'étalonnage

L'évaluation de l'étalonnage, initialement installé par le constructeur, a été réalisée au moyen des 10 échantillons à teneurs garanties (ETG) cellules somatiques commercialisés par ACTALIA Cecalait en juin 2013. Chaque échantillon a fait l'objet de deux répétitions.

Le biais moyen relatif (1,20 %) et la pente de régression (1,005) sont en accord avec les prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 et du manuel CNIEL PROC CE 04 (respectivement +/- 5 % et $1 \pm 0,05$).

De plus, l'écart-type résiduel de régression linéaire obtenu ($13,8 \cdot 10^3$ /ml) est en accord avec les prescriptions du manuel CNIEL PROC CE 04 ($S_{y,x} \leq 20 \cdot 10^3$ /ml).

B. EVALUATION DE LA REPETABILITE ET DE LA JUSTESSE

B.1. Les échantillons

Les essais ont été réalisés à partir de :

- ◆ pour le lait de vache : 80 échantillons de lait de troupeau en provenance de la région Franche-Comté et de 120 échantillons de lait individuel en provenance de 4 élevages du Jura. Les échantillons de lait individuel ont été additionnés de bronopol à 0,02 % final.
- ◆ pour le lait de chèvre : 100 échantillons de lait de troupeau en provenance de la région Poitou-Charentes.
- ◆ pour le lait de brebis : 80 échantillons de lait de troupeau en provenance de la région de Roquefort sur Souzlon.

B.2. Procédure

La répétabilité et la justesse de l'appareil ont été évaluées sur l'ensemble des échantillons (lait de troupeau et individuel). Les dosages ont été effectués en mode d'analyse automatique en doublant chaque série de 20 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 20 échantillons afin de vérifier la stabilité de l'analyseur.

L'évaluation de la justesse a porté sur les valeurs obtenues après étalonnage et ajustage de l'instrument à l'aide des ETG commercialisés par ACTALIA Cecalait. Les valeurs de référence ont été obtenues par la mise en œuvre du dénombrement des cellules somatiques du lait par comptage au microscope selon la norme NF EN ISO 13366-1 : 2007 (mesures en simple confirmées en cas de résidu important) pour le lait de vache et de brebis, et selon l'annexe informative pour le lait de chèvre.

B.3. Résultats

B.3.1. Lait de vache

Les tableaux et figures suivants récapitulent les résultats obtenus :

Classe de Cellules somatiques (10 ^E 03/ml)	n	Min (10 ^E 03/ml)	Max (10 ^E 03/ml)	M (10 ^E 03/ml)	Sx (10 ^E 03/ml)	Sr (10 ^E 03/ml)	Sr (%)	r (10 ^E 03/ml)
Global	77	75,5	1067,0	265,6	145,1	10,0	3,77	28,1
Inf 100	5	75,5	97,0	83,6	10,9	7,8	9,34	21,9
101-1000	71	104,0	500,5	267,1	106,3	9,8	3,66	27,4
1001-2000	1	1067,0	1067,0	1067,0				

Tableau 1 : Critères de répétabilité du Somascope sur échantillons de lait de troupeau de vache

Classe de Cellules somatiques (10 ^E 03/ml)	n	Min (10 ^E 03/ml)	Max (10 ^E 03/ml)	M (10 ^E 03/ml)	Sx (10 ^E 03/ml)	Sr (10 ^E 03/ml)	Sr (%)	r (10 ^E 03/ml)
Global	114	5,0	1859,0	174,5	292,8	12,5	7,19	35,1
Inf 100	71	5,0	99,0	43,4	26,7	3,8	8,69	10,6
101-1000	41	106,0	998,5	324,0	245,9	10,7	3,30	29,9
1001-2000	2	1672,0	1859,0	1765,5	132,2	78,2	4,43	219,1

Tableau 2: Critères de répétabilité du Somascope sur échantillons de lait individuel de vache

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.

On remarque que :

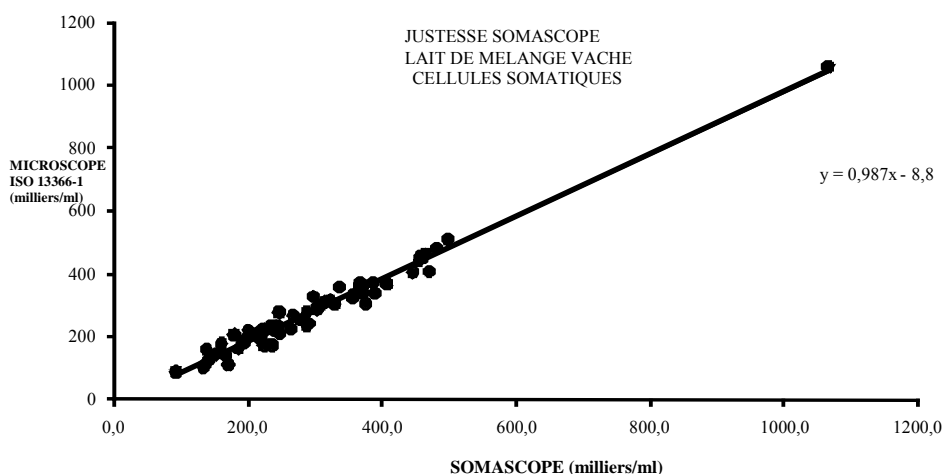
↳ Pour le lait de troupeau : l'écart-type de répétabilité relatif global (3,77 %) est conforme aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($Sr \leq 4 \%$) et du manuel CNIEL PROC CE 04 ($Sr \leq 6 \%$). Pour la classe médiane (101 à 1000.10^E03/ml), qui englobe la grande majorité des résultats, l'écart-type de répétabilité relatif obtenu (3,66 %) est également conforme aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($Sr \leq 4 \%$).

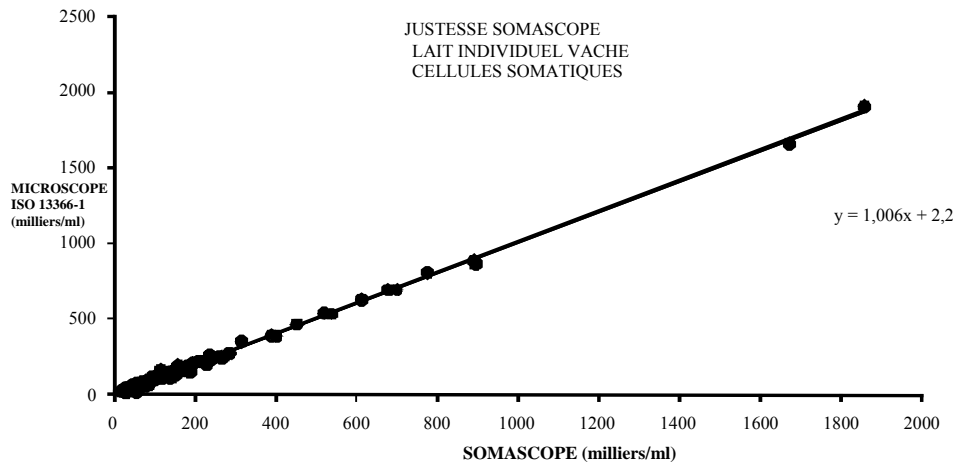
↳ Pour le lait individuel : les limites d'acceptabilité étant les mêmes que pour le lait de troupeau, l'écart-type de répétabilité relatif global (7,19 %) est supérieur aux limites spécifiées en raison d'un grand nombre de résultats très faibles. Cependant, pour les valeurs de la classe médiane (101-1000.10^E03/ml), plus représentatives des résultats couramment observés, l'écart-type de répétabilité relatif (3,30 %) est conforme.

	n	min (10 ^E 03/ml)	max (10 ^E 03/ml)	Y (10 ^E 03/ml)	Sy (10 ^E 03/ml)	d (10 ^E 03/ml)	Sd (10 ^E 03/ml)	Sy,x (10 ^E 03/ml)	Sy,x (%)
Cellules somatiques Lait de troupeau	62	91,0	1062,0	285,0	142,8	12,7	24,0	24,1	8,11
Cellules somatiques Lait individuel	97	17,0	1907,0	195,7	301,0	-3,3	16,3	16,3	8,45

Tableau 3 : Critères de justesse du Somascope sur échantillons de lait de vache.

n, *min*, *max* : nombre de résultats, valeur minimum et maximum ; *Y* : moyenne des résultats par méthode de référence ; *Sy* : écart-type des résultats par méthode de référence ; *d*, *Sd* : moyenne et écart-type des écarts ; *Sy,x* : écart-type résiduel de la régression linéaire (appareil vs référence)





Figures 1 et 2 : Relation entre les résultats Somascope et référence sur échantillons de lait de vache

On remarque que :

↳ Pour le lait de troupeau : la moyenne et l'écart-type des écarts sont respectivement égaux à 12,7 et $24,1 \cdot 10^3$ cellules/ml. La pente (0,987) et l'ordonnée à l'origine (-8,8) de régression obtenues ne sont pas significativement différentes respectivement de un et zéro ($P = 5\%$). L'écart-type résiduel de régression ($24,1 \cdot 10^3$ cellules/ml soit 8,11 %) est conforme aux prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($S_{y,x} \leq 10\%$).

↳ Pour le lait individuel : la moyenne et l'écart-type des écarts sont respectivement égaux à -3,3 et $16,3 \cdot 10^3$ cellules/ml. La pente (1,006) et l'ordonnée à l'origine (2,2) de régression obtenues ne sont pas significativement différentes respectivement de un et zéro ($P = 5\%$). L'écart-type résiduel de régression ($16,3 \cdot 10^3$ cellules/ml soit 8,45 %) est conforme aux prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($S_{y,x} \leq 10\%$).

Pour conclure pour le lait de vache, les résultats obtenus sont en accord avec les spécifications de la norme NF EN ISO 8196-3 / FIL 128-3.

B.3.2. Lait de chèvre

Les tableaux et figures suivants récapitulent les résultats obtenus :

Classe de Cellules somatiques ($10^E03/ml$)	n	Min ($10^E03/ml$)	Max ($10^E03/ml$)	M ($10^E03/ml$)	Sx ($10^E03/ml$)	Sr ($10^E03/ml$)	Sr (%)	r ($10^E03/ml$)
Global	96	641,5	2492,5	1499,1	360,8	42,2	2,82	118,2
Inf 100	0							
101-1000	7	641,5	920,5	799,1	107,7	14,2	1,78	39,9
1001-2500	89	1010,0	2492,5	1549,9	317,1	40,5	2,61	113,4

Tableau 4 : Critères de répétabilité du Somascope sur échantillons de lait de troupeau 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.

L'écart-type de répétabilité relatif global (2,82 %) est conforme aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($S_r \leq 4\%$) et du manuel CNIEL PROC CE 04 ($S_r \leq 3\%$). Pour la classe élevée (1001 à $2500 \cdot 10^3/ml$), qui englobe la grande majorité des résultats, l'écart-type de répétabilité relatif obtenu (2,61 %) est légèrement supérieur aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($S_r \leq 2\%$).

	n	min ($10^E03/ml$)	max ($10^E03/ml$)	Y ($10^E03/ml$)	Sy ($10^E03/ml$)	d ($10^E03/ml$)	Sd ($10^E03/ml$)	Sy,x ($10^E03/ml$)	Sy,x (%)
Cellules somatiques	60	662,0	2466,0	1402,9	362,8	22,8	52,3	52,7	3,70

Tableau 5 : Critères de justesse du Somascope sur échantillons de lait de troupeau de chèvre

n, *min*, *max* : nombre de résultats, valeur minimum et maximum ; *Y* : moyenne des résultats par méthode de référence ; *Sy* : écart-type des résultats par méthode de référence ; *d*, *Sd* : moyenne et écart-type des écarts ; *Sy,x* : écart-type résiduel de la régression linéaire (appareil vs référence)

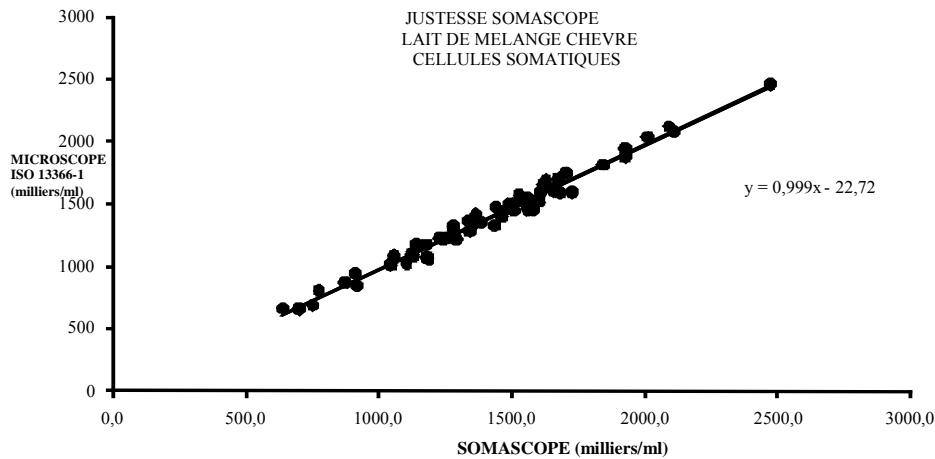


Figure 3 : Relation entre les résultats Somascope et référence sur échantillons de lait de troupeau de chèvre

On remarque que la moyenne et l'écart-type des écarts sont respectivement égaux à 22,8 et $52,3 \cdot 10^3$ cellules/ml. La pente (0,999) et l'ordonnée à l'origine (-22,2) de régression obtenues ne sont pas significativement différentes respectivement de un et zéro ($P = 5\%$). L'écart-type résiduel de régression ($52,7 \cdot 10^3$ cellules/ml soit 3,70 %) est conforme aux prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($Sy,x \leq 10\%$).

Pour conclure pour le lait de chèvre, les résultats obtenus sont en accord avec les spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3.

B.3.3. Lait de brebis

Les tableaux et figures suivants récapitulent les résultats obtenus :

Classe de Cellules somatiques ($10^E03/ml$)	n	Min ($10^E03/ml$)	Max ($10^E03/ml$)	M ($10^E03/ml$)	Sx ($10^E03/ml$)	Sr ($10^E03/ml$)	Sr (%)	r ($10^E03/ml$)
Global	73	168,5	1353,5	561,9	271,3	15,2	2,71	42,6
Inf 100	0							
101-1000	67	168,5	916,0	503,0	190,1	15,2	3,02	42,5
1001-2500	6	1032,0	1353,5	1219,1	135,4	15,4	1,26	43,1

Tableau 6 : Critères de répétabilité du Somascope sur échantillons de lait de troupeau 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.

L'écart-type de répétabilité relatif global (2,71 %) est conforme aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($Sr \leq 4\%$) et du manuel CNIEL PROC CE 04 ($Sr \leq 4\%$). Pour la classe médiane (101 à $1000 \cdot 10^3/ml$), qui englobe la grande majorité des résultats, l'écart-type de répétabilité relatif obtenu (3,02 %) est également conforme aux spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($Sr \leq 4\%$).

	n	min ($10^E03/ml$)	max ($10^E03/ml$)	Y ($10^E03/ml$)	Sy ($10^E03/ml$)	d ($10^E03/ml$)	Sd ($10^E03/ml$)	Sy,x ($10^E03/ml$)	Sy,x (%)
Cellules somatiques	64	153,0	1363,0	583,6	264,2	-14,1	28,8	25,9	4,55

Tableau 7 : Critères de justesse du Somascope sur échantillons de lait de troupeau de brebis

n, *min*, *max* : nombre de résultats, valeur minimum et maximum ; *Y* : moyenne des résultats par méthode de référence ; *Sy* : écart-type des résultats par méthode de référence ; *d*, *Sd* : moyenne et écart-type des écarts ; *Sy,x* : écart-type résiduel de la régression linéaire (appareil vs référence)

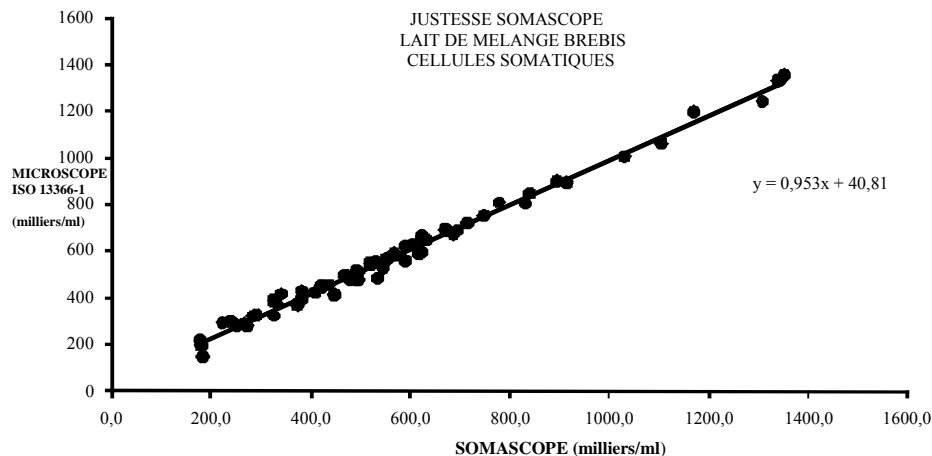


Figure 4 : Relation entre les résultats Somascope et référence sur échantillons de lait de troupeau de brebis

On remarque que la moyenne et l'écart-type des écarts sont respectivement égaux à -14,1 et $28,8 \cdot 10^3$ cellules/ml. La pente (0,953) de régression obtenue est significativement différente de 1 ($P = 1\%$) et l'ordonnée à l'origine (40,8) n'est pas significativement différente de zéro ($P = 5\%$). L'écart-type résiduel de régression ($25,9 \cdot 10^3$ cellules/ml soit 4,55 %) est conforme aux prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 ($S_{y,x} \% \leq 10\%$).

Pour conclure pour le lait de brebis, les résultats obtenus sont en accord avec les spécifications de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3.

CONCLUSION GENERALE

A l'issue de l'évaluation du Somascope, les résultats obtenus sont conformes aux prescriptions de la norme NF ISO 8196-3 / FIL 128-3 : 2010 et/ou des manuels CNIEL/IE d'utilisation des compteurs de cellules somatiques dans le cadre du paiement du lait et du contrôle laitier en France. (CNIEL PROC CE 04) pour les 3 types de lait (vache, chèvre et brebis).

D'après le rapport d'évaluation du compteur de cellules somatiques Delta Instruments Somascope – X. QUERVEL, P. TROSSAT – Septembre 2013