

NORME  
INTERNATIONALE

ISO  
8196-3  
FIL 128-3

Deuxième édition  
2022-05

---

---

**Lait — Définition et évaluation de  
la précision globale des méthodes  
alternatives d'analyse du lait —**

Partie 3:

**Protocole d'évaluation et de  
validation des méthodes quantitatives  
alternatives pour l'analyse du lait**

*Milk — Definition and evaluation of the overall accuracy of  
alternative methods of milk analysis —*

*Part 3: Protocol for the evaluation and validation of alternative  
quantitative methods of milk analysis*



Numéros de référence  
ISO 8196-3:2022(F)  
FIL 128-3:2022(F)

© ISO et FIL 2022

# iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 8196-3:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022>



## DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2022

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8  
CH-1214 Vernier, Genève  
Tél.: +41 22 749 01 11  
Fax: +41 22 749 09 47  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

International Dairy Federation  
Silver Building • Bd Auguste Reyers 70/B  
B-1030 Brussels  
Tél.: + 32 2 325 67 40  
Fax: + 32 2 325 67 41  
E-mail: [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
Web: [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Publié en Suisse

# Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b> .....	<b>iv</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>vi</b>
<b>1 Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3 Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4 Principes généraux relatifs à la validation des méthodes alternatives</b> .....	<b>3</b>
4.1 Protocole de validation .....	3
4.1.1 Généralités .....	3
4.1.2 Phase I .....	3
4.1.3 Phase II .....	3
4.1.4 Agrément national .....	3
4.1.5 Agrément international .....	3
4.2 Domaine de validité de l'agrément .....	3
<b>5 Protocole technique de validation</b> .....	<b>4</b>
5.1 Déroulement des opérations .....	4
5.2 Étude comparative des méthodes (Phase I) .....	4
5.2.1 Généralités .....	4
5.2.2 Évaluations obligatoires pour la validation .....	5
5.2.3 Recherches complémentaires d'informations .....	12
5.3 Étude de confirmation de la méthode (Phase II) .....	15
5.3.1 Généralités .....	15
5.3.2 Vérification de la fidélité dans des conditions de routine .....	15
5.3.3 Collecte de données .....	16
5.3.4 Échantillons pilotes .....	16
5.4 Rapport et délivrance d'un agrément .....	16
5.4.1 Généralités .....	16
5.4.2 Validation nationale .....	16
5.4.3 Validation internationale .....	17
<b>Annexe A (informative) Processus de mesure et précision globale</b> .....	<b>18</b>
<b>Annexe B (informative) Limites des caractéristiques de performance pour le lait cru</b> .....	<b>19</b>
<b>Annexe C (informative) Exemples de calcul</b> .....	<b>26</b>
<b>Annexe D (informative) Mode opératoire de préparation d'une série d'échantillons lors de l'évaluation de la linéarité</b> .....	<b>34</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>38</b>

## Avant-propos

L'ISO (**Organisation internationale de normalisation**) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir [www.iso.org/avant-propos](http://www.iso.org/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale du lait (FIL). Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 8196 | FIL 128-3:2009), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications sont les suivantes:

- simplification du schéma de validation pour la phase II, et possibilité de valider un nouvel instrument par comparaison avec un ancien instrument validé.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 8196 | FIL 128 se trouve sur le site Web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse [www.iso.org/fr/members.html](http://www.iso.org/fr/members.html).

**La FIL (Fédération internationale du lait)** est une organisation privée à but non lucratif qui représente les intérêts des divers acteurs de la filière laitière au niveau international. Les membres de la FIL sont organisés en comités nationaux, qui sont des associations nationales composées de représentants de groupes d'intérêt nationaux dans le secteur des produits laitiers, incluant des producteurs laitiers, des acteurs de l'industrie de transformation des produits laitiers, des fournisseurs de produits laitiers, des universitaires et des représentants des gouvernements/autorités chargées du contrôle des aliments.

L'ISO et la FIL collaborent étroitement sur toutes les activités de normalisation concernant les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du lait et des produits laitiers. Depuis 2001, l'ISO et la FIL publient conjointement leurs Normes internationales en utilisant les logos et les numéros de référence des deux organisations.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Le présent document a été élaboré par le Comité permanent de la FIL chargé des Comité permanent en charge des *statistiques et de l'automatisation* de la Fédération internationale du lait (FIL) et le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'action de la FIL/ISO (S14) du Comité permanent en charge des *statistiques et de l'automatisation* sous la conduite de son chef de projet, Dr S. Orlandini (IT).

[ISO 8196-3:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022>

## Introduction

Le présent document est complémentaire de l'ISO 8196-1 | FIL 128-1. Il décrit un protocole d'évaluation destiné aux nouvelles méthodes alternatives pour lesquelles l'ISO 8196-1 | FIL 128-1 ne peut pas s'appliquer, par exemple lorsque l'organisation d'études interlaboratoires est entravée par un nombre limité de nouveaux instruments disponibles pour l'étude.

Ce phénomène se produit généralement pour les méthodes instrumentales dédiées (analyses liées au paiement du lait ou au contrôle laitier, par exemple) dont la commercialisation dépend d'agrément officiels d'utilisation. Toute demande d'un tel agrément officiel doit être accompagnée d'une ou plusieurs évaluations des caractéristiques de performance appropriées.

Le présent document spécifie un protocole harmonisé permettant aux laboratoires experts de procéder à la validation de méthodes. Il énumère les étapes d'évaluation et propose une approche fondée sur des critères pour l'évaluation des caractéristiques de performance et y compris des recommandations pour vérifier la conformité statistique.

En s'appuyant sur ce protocole harmonisé, un nombre limité d'évaluations devrait suffire pour permettre à un organisme d'agrément de prendre une décision quant à l'application de la méthode et/ou de l'équipement. Des exemples accompagnés de limites indicatives sont donnés pour l'évaluation de méthodes permettant le dosage de la matière grasse, des protéines, du lactose, de l'urée et le comptage des cellules somatiques dans le lait. Les lignes directrices peuvent aussi être appliquées à d'autres paramètres tels que le point de congélation et le pH du lait.

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 8196-3:2022](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e234caed-b17b-4354-b7b7-9c54faa29f5e/iso-8196-3-2022>

# Lait — Définition et évaluation de la précision globale des méthodes alternatives d'analyse du lait —

## Partie 3: Protocole d'évaluation et de validation des méthodes quantitatives alternatives pour l'analyse du lait

### 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie un protocole d'évaluation et de validation de méthodes quantitatives alternatives pour l'analyse du lait. Le présent document s'applique également à la validation de nouvelles méthodes alternatives lorsqu'il n'est pas possible de mettre en œuvre une étude interlaboratoires et d'appliquer l'ISO 8196-1 | FIL 128-1 en raison d'un nombre limité d'instruments opérationnels.

Le protocole est applicable aux paramètres du lait tels que, par exemple, la matière grasse, les protéines, le lactose, l'urée et les cellules somatiques dans le lait. Il peut également être étendu à d'autres paramètres.

Le présent document établit aussi les principes généraux d'une procédure d'octroi d'agrément internationaux pour la performance des méthodes alternatives. Ces principes s'appuient sur le protocole de validation défini dans le présent document.

### 2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 3534-1, *Statistique — Vocabulaire et symboles — Partie 1: Termes statistiques généraux et termes utilisés en calcul des probabilités*

ISO 5725-1, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions*

ISO 8196-1 | FIL 128-1, *Lait — Définition et évaluation de la précision globale des méthodes alternatives d'analyse du lait — Partie 1: Attributs analytiques des méthodes alternatives*

ISO 8196-2 | FIL 128-2, *Lait — Définition et évaluation de la précision globale des méthodes alternatives d'analyse du lait — Partie 2: Calibrage et contrôle qualité dans les laboratoires laitiers*

ISO/IEC 17025, *Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais*

### 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et les définitions de de l'ISO 3534-1, l'ISO 5725-1, l'ISO 8196-1 | FIL 128-1, l'ISO 8196-2 | FIL 128-2 ainsi que les suivants s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

### 3.1 validation de méthode alternative

vérification des performances d'une méthode alternative pour déterminer si elle convient à l'usage prévu

### 3.2 mesurande

grandeur destinée à être mesurée

Note 1 à l'article: Un mesurande peut être un constituant du lait (la matière grasse et les protéines, par exemple), une caractéristique physique (point de congélation, par exemple) ou un élément biologique (cellules somatiques, par exemple).

Note 2 à l'article: Adapté de l'ISO/IEC Guide 99:2007, 2.3.

### 3.3 méthode quantitative

méthode d'analyse dont le résultat est la quantité d'une grandeur, la concentration ou la valeur d'un *mesurande* (3.2) déterminées soit directement, soit à partir d'une prise d'essai

### 3.4 étude comparative des méthodes

étude réalisée par un *laboratoire expert* (3.6) en vue de comparer une méthode alternative avec la méthode de référence ou une méthode/instrument de comparaison dans des conditions d'expérimentation

### 3.5 étude interlaboratoires

étude des performances d'une méthode alternative sur un ou plusieurs échantillons pour laboratoire « identiques » de matériaux stables et homogènes dans des conditions documentées, réalisée dans plusieurs laboratoires et sous le contrôle d'un *laboratoire organisateur* (3.7)

Note 1 à l'article: Il convient que les données soient interprétées en collaboration avec un *laboratoire expert* (3.6).

### 3.6 laboratoire expert

laboratoire disposant de personnel qualifié et des compétences requises pour réaliser l'*étude comparative des méthodes* (3.4)

Note 1 à l'article: Le laboratoire expert est spécialisé dans les évaluations analytiques et doit respecter l'ISO/IEC 17025, et disposer de l'expérience requise dans le domaine d'application.

### 3.7 laboratoire organisateur

laboratoire disposant de personnel disposant d'une expertise statistique, de personnel qualifié et de l'équipement nécessaire pour préparer les échantillons afin de réaliser une *étude interlaboratoires* (3.5)

Note 1 à l'article: Le laboratoire organisateur doit travailler conformément à l'ISO/IEC 17025 pour la méthode utilisée pour vérifier l'homogénéité des échantillons.

### 3.8 agrément national

autorisation d'utilisation de la méthode dans un pays à des fins définies, généralement pour des missions d'intérêt général et/ou à caractère officiel, délivrée par un organisme d'agrément

### 3.9 agrément international

autorisation d'utilisation de la méthode au niveau international à des fins définies, généralement pour des missions d'intérêt général et/ou à caractère officiel, délivrée par un organisme d'agrément au profit de ses parties prenantes

## 4 Principes généraux relatifs à la validation des méthodes alternatives

### 4.1 Protocole de validation

#### 4.1.1 Généralités

Le protocole de validation comprend deux phases comme spécifiées en [4.1.2](#) et [4.1.3](#).

#### 4.1.2 Phase I

Une étude comparative des méthodes comprend l'évaluation des caractéristiques de performance de la méthode alternative en vue de sa validation. Une comparaison de la méthode alternative avec la méthode de référence dans des conditions d'expérimentation est requise. Lorsque l'instrument à évaluer fonctionne sur le même principe analytique et ne présente que des modifications techniques mineures par rapport à la version précédemment validée, la comparaison entre les deux instruments peut être effectuée, en considérant les résultats de la version la plus ancienne comme méthode d'ancrage pour l'évaluation des résultats de l'instrument de nouvelle génération.

Cette partie de l'évaluation doit être confiée à un laboratoire expert.

#### 4.1.3 Phase II

Une étude de confirmation de la méthode dans des conditions d'essai de routine est lancée en cas de réussite de la Phase I. Il est recommandé d'examiner au moins deux instruments, dans le cadre d'un agrément national, ou trois instruments pour un agrément international.

Selon l'objectif recherché, l'organisme d'agrément peut décider s'il est nécessaire d'étudier dans des conditions d'essai de routine deux ou trois instruments et s'il est nécessaire que les instruments soient situés dans un même laboratoire ou dans des laboratoires et des régions différents. Une période d'essai d'au moins deux mois est recommandée pour la Phase II ou pour organiser une étude interlaboratoires associée à la collecte de données auprès de laboratoires d'analyse de routine. Pour cette phase, les détails des étapes sont décrits en [5.3.2](#).

#### 4.1.4 Agrément national

En fonction du contenu des rapports soumis, l'organisme compétent peut octroyer un agrément national, ce qui indique une qualité suffisante des résultats de mesure et l'adéquation de la méthode alternative à l'objectif proposé.

#### 4.1.5 Agrément international

Des organismes d'agrément ou des organisations internationales peuvent octroyer un agrément international. L'agrément international peut être octroyé sur la base de trois validations nationales distinctes ou des résultats de la Phase I obtenus dans un laboratoire expert et des résultats d'une étude de confirmation de la méthode ou d'une étude interlaboratoires, tel que décrit en [4.1.3](#).

### 4.2 Domaine de validité de l'agrément

Ce protocole s'applique à la validation de méthodes alternatives relatives à l'analyse quantitative de la composition et pour la détermination des cellules somatiques dans du lait cru de vache, de brebis, de chèvre et de bufflonne. L'étude de validation doit être menée séparément pour le lait de chaque espèce. Lorsqu'un constituant soumis à validation présente des concentrations inhabituelles (par exemple, un échantillon de lait de vache jersiaise avec une teneur élevée en matière grasse et en protéines), il convient que l'évaluation soit effectuée sur l'ensemble de la gamme de concentration du constituant concerné.

Il convient d'évaluer la méthode et/ou l'instrument configuré selon les recommandations du fabricant. En cas de modifications de la configuration, il convient de prouver de manière indépendante qu'elles n'affectent pas la fidélité ni la précision au-delà de limites acceptables.

Noter et consigner soigneusement dans le rapport toutes les caractéristiques des produits laitiers analysés et de la version du ou des modèles d'étalonnage, ainsi que la ou les configurations de la méthode alternative évaluée.

## 5 Protocole technique de validation

### 5.1 Déroulement des opérations

Quelle que soit la méthode alternative, un processus de mesure normalisé peut être représenté de manière schématisée comme à la [Figure A.1](#). Chaque étape correspond à une source d'erreur qui peut contribuer à l'incertitude globale de la méthode. Le protocole d'évaluation et les plans d'expérience sont conçus pour s'adapter à la séquence de traitement du signal et permettre de vérifier qu'ils sont configurés de sorte que la fidélité et la précision de la méthode puissent respecter les limites requises en pratique.

Chaque étape de l'évaluation décrite dans les paragraphes suivants doit respecter des limites appropriées pour chaque critère d'analyse pour pouvoir passer à l'étape suivante.

L'étude comparative des méthodes (Phase I) définit la séquence d'évaluation minimale à effectuer.

La confirmation de la méthode/l'étude interlaboratoires (Phase II) fournit des informations complémentaires concernant la performance de la méthode dans des conditions d'utilisation de routine.

### 5.2 Étude comparative des méthodes (Phase I)

#### 5.2.1 Généralités

Il est prévu que l'évaluation soit effectuée à partir de résultats d'essai exprimés dans les unités normalisées de la méthode de référence. Pour les méthodes couvrant de vastes plages de valeurs mesurées (c'est-à-dire supérieures à une unité logarithmique), il est recommandé de fractionner la plage en plusieurs niveaux, chacun couvrant un intervalle maximal d'une unité logarithmique, de manière à obtenir au moins trois niveaux et à réaliser les calculs statistiques séparément sur chaque niveau. Le cas échéant, une transformation logarithmique des données peut être appliquée, voir [5.2.2](#).

NOTE 1 Par exemple, pour la matière grasse contenue dans le lait du commerce, il est possible de distinguer le lait écrémé, le lait demi-écrémé et le lait entier. En ce qui concerne le lait cru, les gammes de concentration naturelle de matière grasse et de protéines dépendent souvent des espèces, dont le lait doit être soumis à des évaluations séparées (voir [4.2](#)). Les cellules somatiques dans le lait cru couvrent généralement une plage de plusieurs unités logarithmiques.

Il convient que les résultats de l'évaluation soient conformes aux spécifications indiquées dans les paragraphes suivants. Dans le cadre de l'industrie laitière, les limites relatives aux différentes caractéristiques analytiques mentionnées ont été extraites ou déduites des Normes internationales existantes.

L'[Annexe B](#) résume ces limites pour la matière grasse, les protéines (protéine brute, protéine vraie et caséine), le lactose, l'urée, les cellules somatiques, le point de congélation et le pH en tant que limites indicatives obtenues à partir d'essais d'aptitude.

NOTE 2 En ce qui concerne le lait liquide prélevé au cours de la traite ou de la transformation, les critères d'évaluation peuvent être différents pour les systèmes d'analyse en ligne et en place.

## 5.2.2 Évaluations obligatoires pour la validation

### 5.2.2.1 Évaluation préliminaire des installations instrumentales

#### 5.2.2.1.1 Généralités

Avant de commencer toute autre évaluation, il est nécessaire de vérifier certains critères de base indiquant le bon fonctionnement de la méthode ou de l'instrument. Ces critères sont la répétabilité, la reproductibilité intralaboratoire, la contamination et la linéarité.

#### 5.2.2.1.2 Fidélité (reproductibilité intralaboratoire et répétabilité)

Il convient que la méthode utilisée présente un signal de mesure stable, conforme aux exigences de fidélité. Dans le cas contraire, soit l'instrument d'analyse ne fonctionne pas correctement (et il convient alors de ne pas l'utiliser), soit sa fidélité n'est pas appropriée à l'objectif de l'analyse. Par conséquent, la stabilité instantanée (répétabilité) et la stabilité du niveau du signal doivent être évaluées avant toute autre caractéristique.

Il convient d'évaluer la fidélité à trois niveaux de concentration différents du constituant mesuré, à savoir faible, moyen et élevé.

Pendant la journée, analyser chaque échantillon pilote de lait en triple exemplaire ( $n = 3$ ) toutes les 15 min à 20 min d'activité de l'instrument sans modifier l'étalonnage afin d'obtenir des résultats d'analyse pour au moins 20 échantillons pilotes par niveau ( $q \geq 20$ ). Il convient de préférence que l'instrument soit utilisé dans des conditions les plus proches possible des conditions de routine. Il convient de traiter un nombre d'échantillons suffisant pour maintenir l'instrument en fonctionnement entre les vérifications périodiques.

Pour chaque échantillon pilote, estimer:

- $s_r$ , l'écart-type de répétabilité;
- $s_p$ , l'écart-type de la moyenne des échantillons pilotes;
- $s_c$ , l'écart-type entre les périodes;
- $s_{Rintra}$ , l'écart-type de la reproductibilité intralaboratoire.

Pour chaque période ( $i = 1, 2, \dots, q$ ), calculer la moyenne des échantillons pilotes  $\bar{x}_j$  et l'écart-type de la moyenne des échantillons pilotes  $s_j$  pour les mesures de  $q$  réplicats, comme indiqué par les [Formules \(1\)](#) et [\(2\)](#):

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij} \quad (1)$$

$$s_j = \left( \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2 \right)^{1/2} \quad (2)$$

où

$n$  est le nombre de réplicats pour chaque période ( $n = 3$  en général).

L'écart-type de répétabilité global de cet échantillon pilote s'obtient en déterminant la moyenne de ces  $s_j^2$  sur l'ensemble des  $q$  périodes de la journée, comme indiqué par la [Formule \(3\)](#):

$$s_r = \left( \frac{1}{q} \sum_{j=1}^q s_j^2 \right)^{1/2} \quad (3)$$

où

$q$  est le nombre de périodes.

et l'écart-type de la moyenne des échantillons pilotes, comme indiqué par la [Formule \(4\)](#):

$$s_p = \sqrt{\frac{1}{q-1} \sum_{j=1}^q (\bar{x}_j - \bar{x}^2)} \quad (4)$$

où  $\bar{x} = \frac{1}{q} \sum_{i=1}^q x_i$

L'écart-type corrigé entre les périodes (pour cet échantillon pilote) est donné par la [Formule \(5\)](#):

$$s_c = (s_b^2 - s_r^2 / n)^{1/2} \quad (5)$$

avec  $s_c = 0$  si  $s_c < 0$ .

L'écart-type global de la reproductibilité intralaboratoire pour cet échantillon pilote est donné par la [Formule \(6\)](#):

$$s_{Rintra} = \sqrt{s_r^2 + s_c^2} \quad (6)$$

Il convient que les valeurs de  $s_R$  et  $s_{Rintra}$  obtenues soient conformes aux limites indiquées dans l'[Annexe B](#).

La stabilité de la réponse de la méthode au cours des analyses de l'échantillon pilote peut être visualisée en traçant les moyennes  $\bar{x}_j$  des trois échantillons pilotes différents en fonction du temps. Voir l'exemple à l'[Article C.1](#).

### 5.2.2.1.3 Effet de contamination

**5.2.2.1.3.1** Des différences importantes entre les teneurs en constituants de deux échantillons analysés successivement peuvent influencer sur les résultats du second.

Ces différences peuvent être dues à un rinçage incomplet du système de circulation et de la cellule de mesure et/ou à la circulation de liquide et la contamination par le dispositif d'agitation. Une correction automatique des résultats est acceptable dans certaines limites, sous réserve qu'il puisse être prouvé qu'une petite quantité de matériau est transférée systématiquement d'une mesure à la suivante.

Les analyseurs automatiques de produits liquides permettent souvent d'appliquer des corrections automatiques pour compenser, si nécessaire, l'effet de contamination global. Une distinction claire entre contamination et efficacité du rinçage doit être établie.

**5.2.2.1.3.2** Il convient d'évaluer l'effet de contamination global, y compris les facteurs de correction qui sont soit définis dans l'instrument, soit obtenus à l'aide de la méthode indiquée par le fabricant. Il convient qu'il ne dépasse pas les valeurs indiquées pour chaque constituant.

Les limites sont définies en partant de la condition préalable qu'il convient que l'effet de contamination ne produise pas une erreur supérieure à la répétabilité de la méthode. Par conséquent, il convient que les limites pour le taux de contamination, (COR),  $L_C$ , satisfassent à la condition  $L_C \leq (r/\Delta L_{\text{gamme}}) \times 100$ ,

où  $r$  est la limite de répétabilité au niveau du biais mesuré et  $\Delta L_{\text{gamme}}$  est la différence entre la concentration maximale et la concentration minimale dans la gamme de concentration étudiée. Pour les constituants qui ne présentent pas de répétabilité constante sur la plage de mesure, les limites COR sont déterminées en fonction des niveaux offrant la meilleure répétabilité (par exemple comptage des cellules somatiques). Les limites courantes pour COR sont comprises entre 1 % et 2 %.

**5.2.2.1.3.3** L'efficacité du rinçage du système de circulation doit être évaluée séparément en procédant à des essais sans correction (facteur de correction réglé sur zéro) en mode manuel sans recourir à l'agitateur. Il convient que la contamination ne dépasse pas 1 %, comme indiqué dans l'ISO 9622 | FIL 141 ou 2 % comme indiqué dans l'ISO 13366-2 | FIL 148-2.

**5.2.2.1.3.4** Analyser deux échantillons, à des teneurs faible et élevée avant répartition en séries de prises d'essai. Répéter autant de fois que nécessaire (voir ci-dessous) la séquence d'analyse en matière de teneur en constituant, faible, faible, élevée, élevée, afin d'obtenir  $N_C$  ensembles de résultats  $L_{L1}$ ,  $L_{L2}$ ,  $L_{H1}$  et  $L_{H2}$ . Il convient que le nombre minimal de séquences,  $N_C$ , soit égal à 20.

NOTE En cas de constituants ne présentant pas une répétabilité constante sur la plage de mesure et de niveaux affichant une répétabilité élevée, un nombre de séquences supérieur peut être requis. D'autres nombres de séquences peuvent être calculés par  $N_C \geq [r \times 100 / (L_C \Delta L_{\text{essai}})]^2$  où  $\Delta L_{\text{essai}}$  est la plage entre les échantillons ayant une teneur faible et élevée en constituant (supérieure ou égale à  $\Delta L_{\text{gamme}}$ ).

**5.2.2.1.3.5** Exigences de la méthode pour les échantillons: Préparer un nombre suffisant de prises d'essai à partir de chaque échantillon de laboratoire ayant une teneur faible et élevée avant l'analyse afin que chaque prise d'essai ne soit analysée qu'une seule fois. Il convient de préférence que les échantillons de laboratoire ayant une teneur faible et élevée soient des laits ou des produits laitiers dont la viscosité est comparable à celle des échantillons de routine.

S'assurer que les teneurs respectives en constituant présentent des différences notables. Pour le lait, il est possible, par exemple, d'utiliser une séparation naturelle (écrémage pour la matière grasse), une séparation artificielle (ultrafiltration pour les protéines, microfiltration pour les cellules somatiques) ou une addition (lactose et urée).

Pour les dosages biochimiques de constituants, il convient que les échantillons de laboratoire ayant une teneur faible et élevée soient de préférence des valeurs extrêmes dans la plage de mesure.

Il est recommandé de recourir à des gammes suffisamment étendues pour différencier facilement les effets de contamination d'une erreur aléatoire. La gamme minimale nécessaire,  $\Delta L_{\text{essai}} = L_H - L_L$ , peut être calculée selon  $\Delta L_{\text{essai}} \geq r \times 100 / (L_C \sqrt{N_C})$  où  $r$  et  $L_C$  sont les limites indiquées et  $N_C$  est le nombre de séquences appliquées (voir [Annexe B](#)).

Pour des constituants du lait ou des critères couvrant de vastes gammes de concentration, par exemple 10 à 1 000, le rapport de l'erreur due à la contamination peut ne pas être constant sur l'ensemble de la gamme. Il convient de le vérifier en évaluant la contamination à différentes concentrations.

Dans ce cas, il est recommandé de choisir un niveau  $L_{Hi}$  situé au milieu de chaque partie,  $i$ , préalablement définie dans l'ensemble de la gamme. Un nombre minimal de deux niveaux dans la gamme de teneurs moyenne et élevée est nécessaire, et le nombre peut être porté à trois pour des gammes particulièrement étendues.

Il est recommandé de définir trois niveaux à environ  $500 \times 10^3$  cellules/ml,  $1\,000 \times 10^3$  cellules/ml et  $1\,500 \times 10^3$  cellules/ml dans le cadre du comptage des cellules somatiques dans un lait d'animal individuel.

**5.2.2.1.3.6** Calcul: Calculer la moyenne des différences,  $d_{LLi} = L_{L1i} - L_{L2i}$  et  $d_{LHi} = L_{H2i} - L_{H1i}$ ,  $d_{LL}$ ,  $d_{LH}$  ainsi que la différence moyenne de concentration,  $d_A = \bar{L}_{H2} - \bar{L}_{L2}$