

**CENTRE D'ETUDES ET DE CONTROLE
DES ANALYSES EN INDUSTRIE LAITIERE**

octobre 1995

N°16

LA LETTRE

DE

CECALAIT

n° spécial

**Le point
sur les
chaînes
MIR !**

CECALAIT INRA SRTAL BP 89 39801 Poligny TEL : 84.73.63.20 TELECOPIE : 84.37.37.81
MINICOM : 36 12, nom CECALAIT, n° d'appel 84.73.63.20 e-mail : bapt@poligny.inra.fr

Rédaction achevée le 10 Novembre 1995

Equipe rédactionnelle :

A. BAPTISTE, O. LERAY; Ph. TROSSAT

SOMMAIRE

Les chaînes d'analyses en moyen infra-rouge : un outil de contrôle des analyseurs de lait

CECALAIT et l'Assurance Qualité

Détermination gravimétrique de la matière grasse : des changements à prévoir dans les normes

Normes et projets de normes parus récemment

Validations AFNOR

Nouveautés dans la réglementation

Errata

Du côté de la biblio...

LES CHAINES D'ANALYSES EN MOYEN INFRA-ROUGE : UN OUTIL DE CONTROLE DES ANALYSEURS DE LAIT

Q uoique d'un usage généralisé dans les laboratoires, le dosage des composants du lait par moyen infra-rouge reste un dosage particulier, dont le principe et la mise en oeuvre sont très différents des méthodes chimiques qu'il a supplantées. Ainsi des effets de bassin et des anomalies de réglage des appareils peuvent donner lieu à des écarts non négligeables entre laboratoires.

Les chaînes d'analyse constituent cependant un moyen de suivre et de vérifier la réponse des analyseurs moyen infra-rouge. Elles permettent d'en évaluer les caractéristiques principales, à savoir, la répétabilité, la justesse, le calibrage, la linéarité et les intercorrections. Les calculs effectués sur les résultats et les différents paramètres statistiques obtenus permettent de cerner chacune de ces caractéristiques et de fixer des valeurs seuils d'alerte dans chaque cas.

L'emploi des analyseurs de lait en moyen infra-rouge (MIR) tend à se généraliser dans les laboratoires d'entreprise en suivant l'exemple des laboratoires interprofessionnels laitiers et des laboratoires de contrôle laitier, qui les utilisent depuis maintenant près de 25 ans.

Leur rapidité de réponse, leur polyvalence (analyse simultanée de plusieurs composants d'un même produit, adaptation à d'autres produits), leur économie de main d'oeuvre et leur propreté (pas ou peu de rejets d'effluents chimiques) sont d'un intérêt évident pour tous les laboratoires.

Pourtant ces avantages ne doivent pas masquer les particularités de ces dosages spectrophotométriques, très différents, tant dans leur principe que dans leur mode de mise en oeuvre, des dosages chimiques qu'ils remplacent.

Dans un article d'introduction, déjà ancien; à l'analyse par MIR, partie de cet article (cf La Lettre de CECALAIT, N° 12), nous avons présenté les gammes de laits reconstitués et leurs possibilités d'utilisation pour maîtriser la qualité des résultats obtenus.

L'article d'aujourd'hui décrira leur utilisation dans le cadre d'essais interlaboratoires et expliquera comment interpréter les résultats de ces essais pour évaluer les caractéristiques des analyseurs MIR.

Des réponses infra-rouge variables selon les laits et les analyseurs

Le lait est un produit complexe et de composition relativement variable. De même, ses composants majeurs (matière grasse et protéines) ne sont pas des produits purs mais des assemblages ou des combinaisons variables de molécules de même famille biochimique dont les compositions particulières sont liées aux phénomènes de leurs synthèses (alimentation et génétique).

Des modes de productions différents, notamment d'alimentation des vaches, peuvent conduire à des compositions du lait différentes, par exemple teneur et degré d'insaturation variables pour les triglycérides de la matière grasse, concentration variable en urée et en citrate, qui influencent à des degrés divers la mesure infra-rouge.

Ces sources de variation de la réponse infra-rouge sont à l'origine d'écarts plus ou moins importants entre des laits pour lesquels la MG ou bien les protéines présentent des concentrations identiques mais sont de composition biochimique différente.

Cet aspect doit être pris en considération lors de la réalisation des calibrages (échantillonnage représentatif).

Parallèlement à ces particularités analytiques, il faut également prendre en compte l'aspect purement instrumental de la méthode infra-rouge.

En effet, tout instrument de mesure doit fournir:

- ♦ une réponse stable et répétable dans les limites des spécificités de la méthodes: notion de répétabilité,
- ♦ une réponse proportionnelle à la concentration du composant à mesurer sur la plage de teneurs usuelles: notion de linéarité,
- ♦ une réponse constante à une même concentration du composant dosé, quelles que soient les teneurs des autres composants du lait: notion de robustesse liée à la limitation des interactions entre les différents composants du lait.

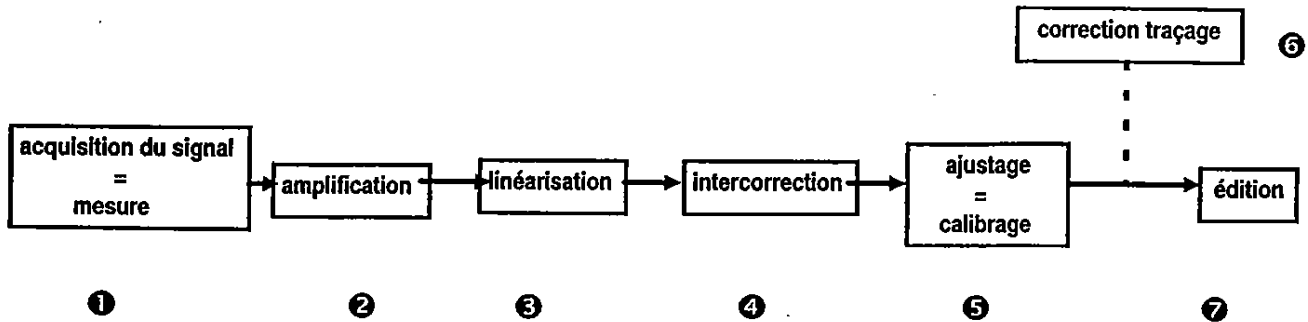
Concernant le dernier point, seules peuvent être réduites les interactions des composants pour lesquels l'appareil effectue également une mesure. Dans la plupart des analyseurs MIR actuels, on peut disposer des mesures de matière grasse (TB), de protéines (TP) et de lactose (TL). Ce sont les composants quantitativement les plus présents et les plus variables, pour lesquels la compensation des interactions (au moyen d'intercorrections) est la plus nécessaire. Les analyseurs de la première génération ne dosant que le TB et le TP sont maintenant l'exception dans les laboratoires français.

Des recherches dans différents pays ont montré que les citrates pouvaient influencer le dosage des protéines tout comme, dans certaines configurations d'appareil, l'urée. Toutefois, l'utilisation de ces composants est très récente et reste limitée à quelques appareils.

Cet ensemble de particularités et la diversité des systèmes proposés par les fabricants de matériels sont à la source de

pratiques souvent différentes aussi bien pour la maintenance, que pour les réglages et les étalonnages périodiquement indispensables. L'expérience a montré qu'il n'était pas rare que les éléments nécessaires à l'obtention de résultats précis ne soient pas tous réunis.

Dans ce contexte, CECALAIT organise depuis janvier 1995 des essais interlaboratoires en moyen infra-rouge (M.I.R.) sur le lait, destinés à permettre aux laboratoires d'évaluer les principales caractéristiques instrumentales de leurs analyseurs, notamment la répétabilité, la justesse, l'étalonnage (pente), la linéarité, les intercorrections. Ils peuvent ainsi suivre et vérifier l'ensemble du traitement du signal, effectué par leurs analyseurs (figure 1).



④ + ⑤ : peuvent être groupés en une seule opération dans certains appareils.
⑥ : sur certains appareils et dans certaines limites

Figure 1 : Schéma général du traitement du signal dans les analyseurs MIR conventionnels

1°) SCHEMA EXPERIMENTAL D'UN ESSAI D'INTERCOMPARAISON M.I.R.

* ECHANTILLONS:

On reconstitue treize lots d'échantillons identiques selon la technique décrite par O. LERAY (1989) en constituant ainsi 13 combinaisons différentes TB/TP/TL sur 3 à 5 niveaux de concentrations (cf. figure 2).

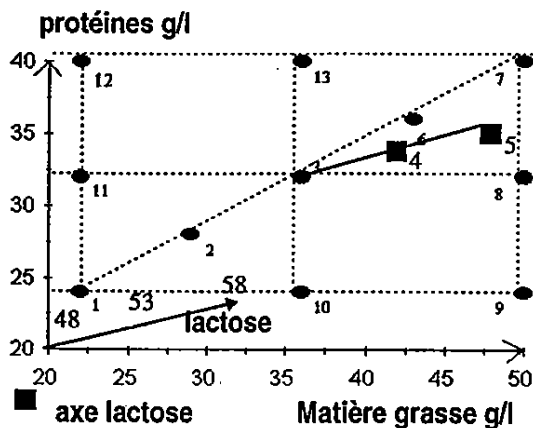


Figure 2 : réseau orthogonal d'échantillons de lait pour le calibrage

Les produits de reconstitution sont issus d'un lait de grand mélange (fromagerie) de la traite du matin même, de manière à garantir la qualité finale des échantillons: aptitude à la conservation et homogénéité.

Ces deux éléments sont évalués lors de chaque essai dans le cadre de procédures de contrôle qualité. Les tests d'homogénéité consistent à analyser 5 séries d'échantillons en double et à pratiquer l'analyse de la variance du critère TB. Les valeurs d'écart type entre échantillons calculées restent comprises entre 0 et 0,04 g/l; l'effet échantillons n'étant statistiquement pas significatif et ne pouvant avoir d'incidence analytique.

Les contrôles de conservation à température constante de 4°C autorisent une utilisation jusqu'à 4-5 semaines ce qui est largement suffisant pour les besoins des essais.

* ANALYSES:

A date fixe, les participants reçoivent les séries d'échantillons, en autant de séries que d'appareils à tester.

Les analyses doivent être réalisées en observant les recommandations précises qui accompagnent les échantillons, notamment concernant le stockage avant analyse, le réchauffage des échantillons et le mélange de la matière grasse. Ces précautions d'emploi sont très importantes car c'est l'intégralité de chaque échantillon qui doit être dosée au cours des analyses successives sans qu'il y ait eu perte de matière grasse ou mouillage accidentels.

Les analyses sont réalisées en triple, 13 vrais doubles successifs suivis d'un second passage en simple des 13 échantillons après un court réchauffage, comme suit:

lait de contrôle (doubles),
lait1, lait1, lait2, lait2, ..., lait13, lait13,
lait de contrôle (doubles),
lait1, lait2, lait 3, ..., lait13,
lait de contrôle (doubles).

2°) EVALUATION DE LA REPETABILITE

L'évaluation de la répétabilité permet de vérifier le fonctionnement général du traitement du signal par les analyseurs de la phase ① à la phase ② (cf Figure 1).

2.1 DEFINITION ET EXPRESSION:

La répétabilité mesure l'étroitesse de l'accord entre résultats obtenus dans les mêmes conditions expérimentales sur un même échantillon et dans un laps de temps réduits.

Elle est exprimée au moyen de 2 paramètres liés l'un à l'autre mais de significations différentes: l'écart type de répétabilité S_r et l'écart maximal de répétabilité r (avec $r = 2,8.S_r$) :

- ♦ S_r permet de définir l'intervalle de confiance d'un résultat $\pm 1,96.S_r$, ou la fourchette des valeurs possibles pour un échantillon donné dans 95 % des cas

- ♦ r définit l'écart maximal entre doubles à ne pas dépasser, sachant toutefois que cette possibilité existe avec une probabilité de 5 %.

2.2 MESURE ET CRITERE D'APPRECIATION:

La chaîne d'analyses MIR de CECALAIT permet le calcul des écarts types de répétabilité S_L de chacun des participants au moyen des 13 triplets de résultats correspondant à chacun des 13 échantillons mis en jeu.

La valeur de S_L peut être évaluée par rapport à la valeur normalisée ($S_r = 0,14$ g/l) établie par la norme FIL 141A:1990. Toutefois, une marge de tolérance peut être prise en considération (cf La Lettre de CECALAIT N°3, 1992), de manière à tenir compte de l'incertitude de l'estimation de S_L liée au nombre de répétitions et d'échantillons. Une limite supérieure pour S_L est fixée par la relation:

$$\lim S_L = \sqrt{S_r^2 \cdot (\chi^2_{k;1-\alpha/2})/k}$$

soit, dans le cas présent pour 13 triples:

$$\lim S_L = 1,27.S_r \text{ ou } \lim S_L = 0,18 \text{ g/l avec } k = 26 \text{ et } \alpha = 0,05$$

Pour chaque échantillon, on calcule un écart-type de trois répétitions pour chacun des laboratoires. De la même manière, une limite, de 0,27 g/l dans ce cas, peut lui être attribuée.

Ces résultats sont présentés dans un tableau d'ensemble de tous les participants (une ligne par laboratoire ou par appareil) et une colonne par échantillon, les valeurs calculées de S_L et le nombre de résultats pris en compte occupant les deux dernières colonnes.

A l'examen du tableau de répétabilité, un dépassement de limite pour S_L doit alerter le laboratoire et l'inciter à rechercher le ou les échantillons en cause (écart-type de triplet supérieur à la limite de 0,27 g/l) et à réexaminer les résultats bruts envoyés à CECALAIT.

2.3 ANALYSE DE LA NON-REPETABILITE:

Des valeurs excessives de S_L peuvent être liées:

- ♦ à la manipulation des échantillons (accident ponctuel comme une perte de matière grasse, un mouillage,...).
- ♦ au fonctionnement de l'appareil (instabilité erratique, décalage ou fluctuation du niveau de réponse, contamination entre échantillons successifs).

La répétabilité évaluée selon la séquence analytique demandée peut permettre, jusqu'à un certain point, de faire la part de ces différentes anomalies :

- ♦ l'instabilité erratique : en principe, elle ne présente pas de différence significative entre les estimations de l'écart-type de répétabilité calculées à partir des doubles des séries de répétitions prises deux à deux, et l'écart type calculé S_L . Elle sera notamment présente au niveau des vrais doubles successifs,

- ♦ un décalage après le premier passage en vrais doubles successifs (pouvant résulter d'un effet température) : un calcul de paramètres statistiques de régression linéaire (norme FIL 128:1985) entre répétition 1 (et / ou 2) et répétition 3 mettra en évidence l'anomalie au niveau de la moyenne des écarts entre séries,

- ♦ une fluctuation du signal tout au long de la séquence analytique : l'examen séquentiel (dans l'ordre d'analyse) des écarts de chaque résultat individuel à la moyenne des trois répétitions correspondantes permettra de le vérifier,

- ♦ le traçage entre échantillons (③ en figure 1): les écarts entre les répétitions 1 et 2, rapportés aux écarts de taux respectifs avec l'échantillon précédent ($n-1$) peuvent permettre de le vérifier, en partant d'échantillons de niveaux différents et en calculant les moyennes des $(T_{n,1} - T_{n,2}) / (T_{(n-1),2} - T_{n,2})$.

Au demeurant, une bonne répétabilité reste essentielle pour pouvoir évaluer correctement les autres paramètres qui entrent dans la précision instrumentale: calibrage, linéarité et intercorrections.

3°) EVALUATION DE LA JUSTESSE:

3.1 DEFINITION ET EXPRESSION:

La justesse mesure l'étroitesse de l'accord entre la moyenne des résultats obtenus sur chaque échantillon et la valeur vraie ou valeur de référence correspondante.

Elle est exprimée par la moyenne (d) et l'écart type (S_d) des différences (appareil-référence).

Elle intègre toutes les erreurs systématiques susceptibles d'apparaître en analyse infra-rouge: biais, pente, courbure et défauts d'intercorrection, lesquels contribuent par leur présence à en augmenter les valeurs.

Toutefois, un biais moyen important, dans la mesure où il est la seule composante de l'erreur de justesse, est acceptable dans

des limites définies expérimentalement, en raison de la variabilité des étalonnages liée à la variabilité de la composition moyenne des laits analysés en fonction de leur origine.

3.2 MESURE ET CRITERES D'APPRECIATION:

⇒ calculs

On calcule les 13 moyennes de trois répétitions correspondants aux 13 échantillons de laits pour chacun des participants ou appareils.

A partir de ces moyennes, on calcule, échantillon par échantillon (niveaux):

- ♦ les moyennes des moyennes qui constitueront la base de l'élaboration des valeurs de référence,
- ♦ les écarts types des moyennes qui permettront d'apprécier la reproductibilité, par niveau, du groupe d'appareils.

On élimine les résultats hors population par application du test de Grubbs à 5 %. Un astérisque permet de les repérer dans le tableau de résultats. (cf La Lettre de CECALAIT N°3).

⇒ référence

On contrôle les moyennes des moyennes par rapport à des résultats obtenus par CECALAIT avec les méthodes de référence (chimiques) conventionnelles pour les étalonnages, de manière à en vérifier l'absence d'effet de courbure et /ou d'interaction :

- ♦ si celle-ci est acquise les moyennes seront utilisées comme référence de l'essai,
- ♦ dans le cas contraire, les résultats de la méthode de référence obtenus par CECALAIT sont ajustés sur les moyennes des analyseurs à l'aide de l'équation de régression linéaire, qui estime les moyennes (y) au moyen des valeurs chimiques (x). Ce faisant, les résidus de courbure ou d'interactions sont lissés et la référence reste centrée par rapport au groupe des participants.

Cette étape des calculs est présentée dans un tableau des moyennes, chaque ligne correspondant à un appareil, chaque colonne à un échantillon.

Dans un second temps, on calcule :

- ♦ échantillon par échantillon, les écarts des moyennes individuelles à la valeurs de référence correspondante,
- puis
- ♦ analyseur par analyseur, les moyennes (d) et les écarts types (Sd) des écarts à la référence.

Un tableau regroupe l'ensemble des écarts analyseurs (en ligne) x échantillons (en colonne) ainsi que les valeurs de d et de Sd, associées aux valeurs correspondantes du test t de Student par rapport à l'écart nul.

⇒ Diagnostic

Les valeurs de d devraient en principe se trouver dans une zone de plus forte probabilité, définie pour chaque composant sur la base d'expérimentations répétées en France et en 'Europe :

Matière grasse : $\pm 0,6$ g/
Protéines : $\pm 0,4$ g/
Lactose : $\pm 1,0$ g/l

Ces tolérances sont très supérieures aux limites admises pour les méthodes chimiques qui, elles, ne sont pas sensibles aux effets de composition du lait.

Un laboratoire hors tolérance pour d est ainsi informé de la réponse particulière de son analyseur par rapport aux autres laboratoires et sait qu'il doit se montrer prudent dans ses comparaisons avec d'autres entreprises. Toutefois, une part de biais systématique peut résulter de sa méthode de référence et un contrôle de cette dernière dans un essai interlaboratoires ou au moyen de matériaux de référence lui permettra de l'évaluer.

Une part de la moyenne des écarts peut également résulter d'un défaut d'ajustement de la pente par rapport à 1,00 ou d'un défaut de linéarité. On observe alors des valeurs élevées d'écarts-types des écarts (Sd).

Ces défauts sont analysés successivement lors de l'évaluation du calibrage et de la linéarité.

Sd intègre également une part de l'erreur de répétabilité. Une forte anomalie sur une répétition d'un échantillon peut créer un écart anormal à la référence par rapport aux autres échantillons et amplifier ainsi l'écart type des écarts. On identifie l'anomalie au niveau des écarts-types des triples dans le traitement de la répétabilité.

On peut considérer les valeurs suivantes comme seuil d'alerte pour Sd:

Matière grasse : 0,20 g/l
Protéines : 0,15 g/l
Lactose : 0,15 g/l

Comme dans les chaînes d'analyses classiques de CECALAIT (cf La Lettre de CECALAIT N°3), la synthèse des résultats de justesse est proposée sous forme :

- ♦ d'un tableau de classement des laboratoires, qui utilise la distance Euclidienne : $D = \sqrt{d^2 + Sd^2}$

et

- ♦ d'une visualisation graphique utilisant une cible de conformité

4°) EVALUATION DU CALIBRAGE:

4.1 DEFINITION ET EXPRESSION:

La calibration est l'opération d'ajustement de la réponse de l'analyseur sur la méthode chimique conventionnelle de référence.

L'ajustement doit être réalisé à tous les niveaux du domaine d'utilisation de la méthode. Après calibrage, la relation linéaire $y = b \cdot x + a$, qui lie les valeurs de référence (y) à la réponse de l'appareil (x) ne doit pas différer significativement de $y = x$.

La moyenne des écarts (d) informe de la pertinence de l'ajustement au niveau de la moyenne des taux de l'essai interlaboratoires.

Ce biais moyen est un biais constant pour tous les niveaux de taux dans la mesure où la pente de calibrage est correctement ajustée sur la valeur 1,00. Dans le cas contraire, il existe une erreur systématique additionnelle (e), proportionnelle à l'écart de pente par rapport à 1,00 et à l'écart entre le niveau d'analyse (x) et le niveau moyen (x_m) (moyenne des taux de la gamme de l'essai): $e = (1-b) \cdot (x - x_m)$.

Si un biais systématique peut être relativisé et admettre une certaine tolérance liée à la nature variable des laits de calibrage dans les différents laboratoires (voir la justesse), les écarts de pente doivent rester limités et acceptables par rapport à l'utilisation qui est faite des résultats, car ils créent une **erreur systématique effective**.

Les laboratoires de paiement du lait et de contrôle laitier notamment doivent se garantir des écarts de pente dans la mesure où, à l'aide d'un même calibrage, ils analysent des échantillons de teneurs très variables (amplitude de variation TB-TP d'environ 30 et 20 g/kg en contrôle laitier; 10 et 5 g/l en paiement). Il en est de même, pour les laboratoires d'usine analysant des laits modifiés (concentrés ou dilués selon les besoins).

4.2 MESURE ET CRITERES D'APPRECIATION:

➤ **calculs** : A partir des 13 moyennes (x) de chacun des laboratoires (ou analyseurs) et par rapport aux valeurs de référence (y), on calcule l'équation linéaire $y = b \cdot x + a$, selon la méthode des moindres carrés.

Ces équations sont reportées dans un tableau spécifique (une ligne par appareil), accompagnées des tests t de Student de la pente par rapport à 1,00, des moyennes et écarts-types des écarts (d et S_d), des écarts-types résiduels liés à la régression ($S_{y,x}$) et des erreurs systématiques théoriquement induites par les équations estimées à chaque extrémité du domaine de variation des taux.

➤ **diagnostic** : Les valeurs de pente (b) devraient rester comprises entre 0,98 et 1,02. Pour autant, les tests de t peuvent apparaître très significatifs à l'intérieur de ces tolérances, ce dont on ne s'effrayera pas. La nature et la qualité des échantillons utilisés permettent en effet une qualité d'estimation qui met en évidence, et de manière significative, de très faibles écarts.

L'écart type résiduel ($S_{y,x}$) indique la réduction qu'il est possible d'obtenir de l'écart-type des écarts (S_d ou $S_{x,y}$) en ajustant parfaitement la pente à 1,00.

Les mêmes limites que pour S_d peuvent être admises pour $S_{y,x}$ (cf 3.2). Un dépassement doit alerter le laboratoire et conduire à un examen plus poussé des résultats (répétabilité, linéarité, intercorrections).

5°) EVALUATION DE LA LINEARITE:

5.1 DEFINITION:

La linéarité est l'aptitude de l'instrument de mesure à fournir des résultats proportionnels aux concentrations du produit dosé.

En l'absence de linéarité, l'objectif du calibrage n'est pas atteint car l'ajustement n'est pas assuré en tout point du domaine de variation des taux, mais seulement aux points de recoupement de la courbe de réponse et de la droite théorique $y = x$. Entre ces points, on constate la présence d'une erreur systématique variable.

En spectrophotométrie infra-rouge, la linéarité des densités optiques mesurées n'est pas toujours acquise et une étape de linéarisation est généralement nécessaire dans le processus de traitement du signal instrumental (☉ en figure 1).

5.2 MESURE ET CRITERE D'APPRECIATION

➤ **calculs**: Pour chaque appareil, on réalise une optimisation numérique du calibrage, suivie du calcul des écarts résiduels (ou résidus) à la référence. Ces écarts, accompagnés des taux correspondants, sont reportés dans un tableau spécifique et classés selon l'ordre croissant des taux.

De même, on calcule une régression quadratique (polynômiale d'ordre 2, selon les moindres carrés) pour déterminer l'écart type résiduel quadratique et le rapport entre la variance résiduelle de la régression linéaire et celle de la régression quadratique.

➤ **diagnostic** : Dans le cas d'une courbure du signal, les résidus se regroupent en fonction des niveaux, de part et d'autre de l'écart nul (qui correspond à la droite $y = x$). Ils délimitent ainsi des plages d'écarts négatifs et d'écarts positifs. En revanche, dans le cas d'une réponse linéaire, leur répartition se présente de façon aléatoire.

De même, l'ajustement sur une équation curvilinéaire quadratique est toujours meilleur, impliquant des écarts résiduels à la courbe plus faibles et, par là-même, un écart type résiduel quadratique (S_c) inférieur à l'écart type résiduel linéaire (S_l ou $S_{y,x}$). L'écart type résiduel quadratique montre ainsi la marge de progrès possible par un ajustement de la linéarité sur un polynôme d'ordre 2.

Le rapport des variances tend à augmenter avec le degré de non-linéarité, à qualité analytique égale par ailleurs (à valeurs d'écarts-types résiduels identiques après optimisation).

Au delà de la valeur statistique $F=2,96$, les deux variances sont considérées comme statistiquement distinctes avec un risque d'erreur de 5 %, ce qui est signalée dans le tableau par un signe "+".

Les limites supérieures d'alerte pour S_c restent les mêmes que pour S_d et $S_{y,x}$ (cf 3.2). Des valeurs excessives indiquent la présence d'anomalies annexes (répétabilité, intercorrections) à vérifier.

6°) EVALUATION DES INTERCORRECTIONS:

6.1 DEFINITION ET EXPRESSION

La spécificité des mesures en moyen infra-rouge pour les composants à doser est importante, mais n'est pas totale. Des phénomènes d'interaction entre les composants majeurs du lait nécessitent des corrections réalisées grâce aux signaux les plus spécifiques de chacun des autres composants.

Ces corrections interviennent après linéarisation des réponses instrumentales. Elles sont linéaires et proportionnelles aux signaux des composants qui influent sur la réponse du canal concerné, mais de signe opposé aux interactions de manière à les neutraliser. On les nomme intercorrections.

Un appareil aux intercorrections bien ajustées ne présente pas d'interactions apparentes à l'analyse; De ce fait, un calcul de régression linéaire multiple, pour un canal donné, fait apparaître une équation

$$y = b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 + a$$

où les valeurs de b_2 et b_3 ne sont pas statistiquement distinctes de zéro,

et

où b_1 n'est pas non plus statistiquement distinct de b (pente de la régression linéaire simple dont l'objectif est $1,00 \pm 0,02$).

6.2 MESURE ET CRITERE D'APPRECIATION:

Pour chaque analyseur et pour l'ensemble des composants, on calcule les équations de régression linéaires simples et multiples et on les compare dans des tableaux spécifiques.

Les coefficients de régression principaux (pente b et b_1) et secondaires (b_2 et b_3) sont accompagnés de leurs valeurs respectives de test t de Student. Celles-ci indiquent si les estimations sont significativement distinctes de 1,00 pour b et b_1 , et de 0 pour b_2 et b_3 . (si t est supérieur à 2,3).

A une récapitulation des valeurs de justesse d et S_d , on adjoint :

- ♦ les valeurs d'écart-types résiduels des régressions simples, Sl_1 identiques à $S_{y,x}$ ou à Sl_1 ,
- ♦ les valeurs d'écart-types résiduels des régressions multiples, Sl_2 ou Sl_3 , selon que 2 ou 3 facteurs (ou composants) sont impliqués dans les calculs,

La comparaison de ces différents écarts-types montre la progression possible en matière de précision d'ajustement, grâce aux optimisations successives de la pente et des intercorrections.

Les limites supérieures d'alerte pour Sl_2 ou Sl_3 restent les mêmes que pour S_d et $S_{y,x}$ (cf 3.2) et des valeurs excessives indiquent la présence d'anomalies annexes (répétabilité, linéarité) à vérifier.

Le rapport des variances des régressions simples et multiples correspondantes augmentent avec des interactions significatives. Dans ce cas, on identifie rapidement à l'aide des tests t , aux valeurs élevées, l'objet de ou des anomalies. Toutefois, comme pour la linéarité, la nature et la qualité de la gamme d'échantillons permet la mise en évidence de manière très significative de faibles écarts. Il ne faut pas s'en alarmer en deçà d'un certain seuil. Ainsi, on pourra considérer comme satisfaisantes des interactions restant dans les limites de $\pm 0,02$.

7°) CONCLUSION:

Les essais interlaboratoires moyen infra-rouge fournissent une information directement utilisable par les laboratoires.

Ils leur indiquent quels points particuliers peuvent être éventuellement ajustés plus finement et les progrès possibles, par le biais de l'analyse des écarts types. Ces ajustements peuvent d'ailleurs être effectués ultérieurement à l'aide de gammes d'étalonnage M.I.R. préparées selon le même principe que dans l'essai.

Ils les informent sur leur position relative (biais moyen) par rapport à la population des laboratoires participants et de l'intérêt d'en tenir compte dans les contrôles et les transactions entre entreprises, dans la mesure où les biais ne sont pas liés aux réglages mais à la composition des laits locaux.

Liste des abréviations

MG : matière grasse
MIR : moyen infra-rouge
TB : taux butyreux
TL : taux de lactose
TP : taux protéique

Bibliographie

LERAY O. Protocole de préparation d'échantillons de lait reconstitués destinés à l'étalonnage des appareils infra-rouge. Note technique ITEB-INRA Poligny n°1 - décembre 1988, 15 pages.

LERAY O. Calcul des interactions des spectrophotomètres utilisés pour les dosages TB-TP-TL du lait en moyen infra-rouge. Note technique ITEB-INRA Poligny n°2 - mars 1989, 14 pages.

LERAY O. Procédure d'étalonnage des analyseurs infra-rouge au moyen de gammes d'échantillons de lait reconstitués. In : 27e Congrès ICAR (International Committee for Animal Recording), Paris, juillet 1990, 4 pages

CECALAIT ET L'ASSURANCE QUALITE

Schématiquement, l'activité de CECALAIT peut être séparée, d'une part, en une activité de production d'échantillons, chaînes ou matériaux de référence secondaire, et, d'autre part, en une activité analytique pour ses propres besoins. A l'heure actuelle, il n'existe pas de référentiel d'assurance qualité regroupant ces deux types d'activité dans une même entité. Pour une reconnaissance immédiate, la solution consisterait, soit à fixer son propre référentiel, soit à mettre en place un système d'assurance qualité pour chacun de ces deux types d'activité. Toutefois aucune de ces solutions n'est parfaite, chacune présentant des avantages et des inconvénients. Dans l'attente d'un référentiel adapté, CECALAIT a néanmoins mis en place dès l'origine, un système de dispositions générales et techniques permettant d'assurer la qualité des services proposés.

Depuis plusieurs années, les entreprises laitières et les laboratoires sont confrontés à la mise en place de systèmes destinés à assurer la qualité de leurs activités.

La qualité des essais réalisés (à des fins internes à l'entreprise ou externes) est un point important de cette démarche. C'est pourquoi CECALAIT a été créé afin que la filière « lait » dispose d'un organisme spécialisé, ayant pour mission d'offrir un ensemble de services en vue d'une maîtrise maximale des techniques analytiques, chimiques et microbiologiques dans les laboratoires.

L'activité propre de CECALAIT peut se résumer d'une part, à une activité de production d'échantillons (chaînes d'analyses ou matériaux de référence secondaire), et d'autre part, à une activité analytique pour ses propres besoins pour établir :

- * les valeurs de référence des « matériaux de référence secondaires »,
- * des valeurs de référence pour les contrôles réglementaires (génétique laitière).

Force est de constater qu'il n'existe aujourd'hui aucun référentiel spécifique à ce type d'organisme et que les référentiels d'AQ existants (ISO 9002 ou EN 45001), utilisés par nos clients, apparaissent inadaptés car insuffisants sur l'une ou l'autre partie de notre activité (production d'échantillons ou activité analytique), par rapport aux exigences générales et techniques requises pour définir un système d'AQ utilisable et efficace.

Néanmoins pour une reconnaissance immédiate, il resterait l'alternative suivante :

- * soit, fixer son propre référentiel et le proposer à l'organisme chargé de l'évaluer, avec l'inconvénient d'être à la fois juge et partie,
- * soit, mettre en place un système d'AQ spécifique à chacune des deux activités majeures selon les deux types de référentiels existants : production (ISO 9002) et prestations analytiques (EN 45001), pour le service production!

Il faudra prendre en considération, dans ce dernier cas les risques de dysfonctionnement occasionnés par la coexistence de deux systèmes différents.

Cependant CECALAIT a mis en place depuis le début de son activité, un ensemble de dispositions générales et techniques pour assurer aux clients la qualité des services proposés, indispensable à une évaluation objective des résultats produits par les laboratoires. L'ensemble du système peut être schématisé selon la figure donnée page suivante.

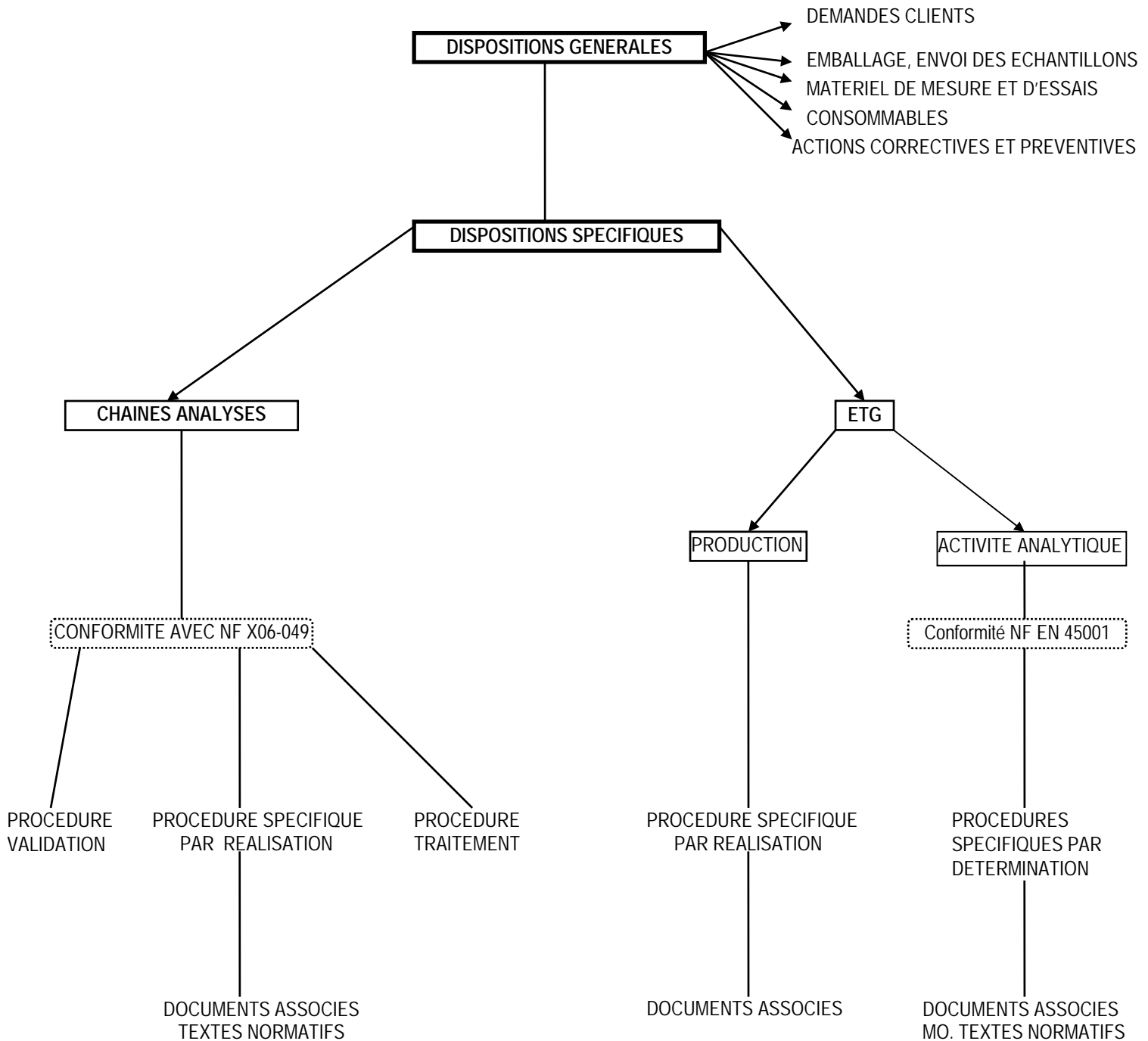
Les dispositions générales sont applicables à l'ensemble de l'activité de CECALAIT.

Elles correspondent à des procédures d'organisation (traitement des demandes, des anomalies, des dérogations, envois...) et à des procédures à caractère technique générales (consommables, équipement et matériel de mesure et d'essai...).

Les dispositions spécifiques associées donnent lieu à des procédures ciblées par activité ou action.

- * ex : procédure « réalisation ETG Gerber » : elle comprend toutes les étapes depuis le prélèvement du lait jusqu'au test d'homogénéité,
- * ex : procédure « détermination des valeurs de référence MG-Gerber : norme utilisée, nombre des répétitions réalisées, nom des laboratoires participant à l'établissement de la référence.

Le système actuel se limite essentiellement à la partie « procédure » des opérations et ne comprend pas encore l'ensemble de la documentation (PQ - MQ) souhaitable dans un système d'AQ. Toutefois, il permet d'assurer, pour l'instant, l'essentiel de ce que les laboratoires peuvent attendre de garantie sur les échantillons de référence, de contrôle ou d'étalonnage et sur les essais interlaboratoires et leur permet d'assurer sans conteste la qualité de leurs résultats analytiques.



De plus, cette solution permettra, très certainement une adaptation très rapide au nouveau référentiel, qui, nous l'espérons tous, ne saurait tarder. L'hypothèse qui nous apparaîtrait néanmoins la plus souhaitable consisterait à établir un référentiel spécifique pour l'ensemble de l'activité de CECALAIT. Ce texte utiliserait les éléments existants dans les textes normatifs actuels : NF EN 45001, ISO 9002, X 06-049. Il pourrait ensuite être soumis aux organismes d'accréditation et de normalisation : COFRAC et AFNOR.

En dehors de ces problèmes administratifs, on peut penser également que l'accession de CECALAIT à des locaux spécifiques et adaptés à son activité, que l'on peut espérer à court terme, permettra une meilleure approche, en nous laissant une

plus grande liberté de manœuvre pour obtenir une reconnaissance officielle de qualité.

Liste des abréviations

AQ : assurance qualité
ETG : échantillons à teneur garantie
MG : matière grasse
MO : mode opératoire
MQ : manuel qualité
PQ : plan qualité

DETERMINATION GRAVIMETRIQUE DE LA MATIERE GRASSE :

des changements à prévoir dans les normes

Dans le cadre des révisions périodiques des normes ISO, les groupes français, allemands et néerlandais concernés par le lait et les produits laitiers estiment souhaitable de réviser les normes ISO 1736, 1737 et 2450 de 1985. Celles-ci portent sur la détermination gravimétrique de la matière grasse, respectivement dans les produits laitiers secs, dans les laits concentrés et dans la crème. Ces instances estiment notamment

que pour des raisons de sécurité, un changement de solvant d'extraction s'impose. Elles proposent donc de remplacer :

- * le diéthyléther par du t-butyl methyl éther
- * l'éther de pétrole par du pentane.

Affaire à suivre, donc !

NORMES ET PROJETS DE NORMES PARUS RECEMMENT (reçus entre Juillet et Octobre 1995)

NORMES AFNOR

V 06-041-parties 1, 2, 3, 4, 6 (NF ISO 5725-1/2/3/4/6) : décembre 1994.

APPLICATION DE LA STATISTIQUE. EXACTITUDE (JUSTESSE ET FIDELITE) DES RESULTATS ET METHODES DE MESURE

Il s'agit de la nouvelle version de la norme ISO 5725 de 1987, qui avait été annulée en décembre 1994. Elle est maintenant éclatée en 6 parties, parues séparément :

- * Partie 1 : principes généraux et définitions
- * Partie 2 : méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée
- * Partie 3 : mesures intermédiaires de la fidélité d'une méthode de mesure normalisée.
- * Partie 4 : méthode de base pour la détermination de la justesse d'une méthode de mesure normalisée.
- * Partie 6 : utilisation dans la pratique des valeurs d'exactitude

La partie 5, consacrée aux méthodes alternatives aux méthodes de base pour la détermination de la justesse et de la fidélité, est encore en cours d'instruction. Sa parution est prévue pour Juin 1997

PROJETS DE NORMES AFNOR

Projet V 04-040-1/2/3 (NF EN ISO 13366-1/2/3) : LAIT : DENOMBREMENT DES CELLULES SOMATIQUES

- * Partie 1 : méthode au microscope (méthode de référence)
- * Partie 2 : méthode par comptage de particules au compteur électronique
- * Partie 3 : méthode fluoro-opto-électronique

Projet V 04-150 (NF EN ISO 707) . Lait et produits laitiers : guide d'échantillonnage

Projet V 04-154 (NF ISO 6733) Lait concentré en conserve, caséines et caséinates : détermination de la teneur en plomb : méthode spectrométrique de référence

Projet V 04-356 (NF ISO 11868) Lait traité thermiquement : détermination de la teneur en lactulose : méthode par chromatographie liquide haute performance

Projet V 08-028-1 (NF EN ISO 11290-1) . Microbiologie des aliments : méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes*. Partie 1 : méthode de recherche

Projet V 08-060 . Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C. Méthode de routine

ISO 11290-1/2 : Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*

- * Part 1 : detection method (voir ci-dessus, version française)
- * Part 2 : enumeration method

VALIDATIONS AFNOR

Il n'y a pas eu de nouvelle méthode validée pour le lait et les produits laitiers. En revanche, parmi les méthodes déjà

reconnues, signalons que la validation du Salmonella Rapid Test d'Unipath est reconduite pour 4 ans.

NOUVEAUTES DANS LA REGLEMENTATION

FRANCE

Arrêté du 2/3/1995 (JO du 6/4/1995), relatif à l'agrément des centres de collecte, de standardisation ou de traitement du lait et des établissements de transformation du lait et des produits à base de lait. Il s'agit, pour l'essentiel de la reprise dans la réglementation française de la directive 94/71, du 13/12/1994, que nous vous avons signalée dans La Lettre de CECALAIT, N° 15, juillet 1995

Avis des 14/6/1995 et 17/8/1995, relatifs à la production de laits de consommation et de produits à base de lait, en vue de leur mise sur le marché communautaire. Il s'agit de la mise à jour de la liste des établissements titulaires de la marque de salubrité, prévue par les arrêtés concernant l'agrément des transformateurs de lait et produits laitiers, ainsi que des centres de collecte, de standardisation ou de traitement du lait.

EUROPE COMMUNAUTAIRE

Règlements n° 1102/95, n° 1441/95, n° 1442/95, n° 1798/95 de la Commission, respectivement des 16/5/1995, 26/6/1995 (2

textes) et 25/7/1995, modifiant les annexes I, II, III et/ou IV du règlement n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale. (JO CE L 110 du 17/5/1995, L 143 du 27/6/1995, L 174 du 26/7/1995)

Ces textes complètent les listes des limites maximales de résidus fixées pour certains antibiotiques, antiparasitaires, corticoïdes...ou précisent quelles sont les substances pour lesquelles on ne peut définir de limite maximale (en annexe IV)

Directive 95/39 du Conseil du 17/7/1995, modifiant les annexes des directives 86/326 et 86/363 CEE concernant la fixation des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les céréales et les denrées alimentaires d'origine animale (JO CE L 197 du 22/8/1995). Ce texte rajoute quatre résidus de pesticides à la liste initiale et fixe leur teneur maximale dans le lait et les produits laitiers.

ERRATA

* Dans le compte-rendu de l'Assemblée Générale de CECALAIT, diffusé en même temps que notre dernière Lettre de CECALAIT, une erreur s'est glissée en page 1. M. ROSSEEL (CILFA, Fruges) est membre du **Comité Scientifique** et non pas, comme nous l'avions écrit, membre du Conseil d'Administration. Nous le prions de nous excuser de cette erreur.

Vous trouverez la liste des membres des Conseil d'Administration et Comité Scientifique, jointe à cette Lettre de CECALAIT.

* Nous signalons également une erreur en page 2 du fascicule « Normes de tolérance pour les chaînes d'analyse CECALAIT », qui avait été envoyé aux adhérents de CECALAIT en Octobre 1994 (en même temps que La Lettre de CECALAIT N° 12). Cette page concerne les chaînes d'analyse CECALAIT sur le lait cru. Les valeurs erronées étaient les valeurs S_r et $\lim S_L$ pour la méthode Kjeldahl, appliquée à la détermination de l'azote non

protéique : KJELDAHL NPN. Lorsque les résultats sont exprimés en g MAT/kg de lait, les valeurs exactes obtenues sont les suivantes :

$S_r = 0,068$
 $\lim S_L = 0,122$
 $r = 0,19$

Une copie de cette page 2 modifiée est jointe à La Lettre de CECALAIT de ce mois d'Octobre 1995.

Nous vous prions de nous excuser.

Nous rappelons, en outre, à ceux d'entre vous qui n'auraient pas eu l'ensemble de ce fascicule ou qui l'auraient égaré qu'ils peuvent en obtenir une copie sur simple demande à CECALAIT.

DU COTE DE LA BIBLIO

La station de Poligny s'est équipée d'une «somme méthodologique» : le OMA 16e édition, en d'autres termes l'édition 1995 du « Official Methods of Analysis of AOAC International », présentée maintenant sous forme de feuillets détachables pour une mise à jour plus aisée...

Rappelons que les normes AOAC ont le statut de méthodes officielles aux Etats-Unis et au Canada. En outre, de plus en plus de normes internationales portent le sceau commun FIL-ISO-AOAC. Il reste néanmoins un grand nombre d'analytes ou de matrices, pour lesquels seule une méthode AOAC est officiellement disponible. Aussi, si vous avez besoin d'une de ces méthodes, n'hésitez pas à faire appel à nous.

Dans les documents de taille plus modeste, nous avons repéré quelques lignes de force, au cours du dernier trimestre.

☞ DENOMBREMENT INSTRUMENTAL DES CELLULES SOMATIQUES DANS LE LAIT

Nous avons, avant tout, remarqué trois articles importants sur ce thème. Ils s'intéressent, soit aux facteurs opératoires susceptibles d'influer sur les résultats, soit à des améliorations de contrôle et de calibrage, soit comparent les résultats obtenus selon deux principes de mesure différents. Il s'agit de

CLARKE T.; EVANS M.E.; HEPWORTH G.; MOATE P.; STEWART J.A. Mordant factors that affect the fluorescence and counting of somatic cells by instruments. *J. Dairy Research*, 1995, V. 62, p. 373-394

HEESCHEN W.H.; UBBEN E.H.; RATHJEN G. Zählung somatischer Zellen in Milch : Untersuchungen zur Messung in der Durchflußzytometrie (Somacount) und Vergleich mit den Meßergebnissen nach fluoreszenzoptischem Prinzip (Fossomatic 360). [*Dénombrement des cellules somatiques dans le lait : essais de mesure en cytométrie de flux (Somacount) et comparaison avec les résultats obtenus par une méthode fluoroptique (Fossomatic 360)*]. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 1994, V. 46, N. 4, p. 291-316 [*résumé en français - traduction possible*]

VERMUNT A.E.M.; LOEFFEN G.J.M.; VAN DER VOET H; NABER M.A.A.M. Development of reference samples for the calibration and quality control of somatic cell count using a Fossomatic instrument. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 1995, V. 49, p. 111-123

Nous préparons des résumés et une discussion générale autour de ces trois articles pour un prochain numéro de La Lettre de CECALAIT.

☞ COMPOSANTS MAJEURS

BUTIKOFER U.; RUEGG M.; ARDO Y. Determination of nitrogen fractions in cheese : evaluation of a collaborative study. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1993, V. 26, N. 3, p. 271-275

JAKOB E., SIEVERT C., SOMMER S.; PUHAN Z. Automatisierte Bestimmung des Gesamtstickstoffs in Milch nach der Dumas-

Methode. [*Détermination automatisée de l'azote total du lait par la méthode Dumas*]. *Zeitschrift Lebensm. Unters. Forsch.*, 1995, V.200, N. 4, p. 239-243

RODRIGUEZ-OTERO J.L.; HERMIDA M.; CEPEDA A. Determination of fat, protein, and total solids in cheese by near-infrared spectroscopy. *Journal of AOAC International*, 1995, V. 78, N. 3, p. 802-806

MANNINO S.; COSIO M.S.; WANG J. Organic-phase enzyme biosensor for moisture determination in food products. *Analyst*, 1994, V. 119, p. 2001-2003

MARRAZA G.; CAGNINI A.; MASCINI M. L- and D- lactate assay in real milk samples with immobilized enzyme reactors and graphite electrode. *Talanta*, 1994, V. 41, N. 6, p. 1007-1014

☞ METAUX

BARBERA R.; ESTEVE M.J.; FARRE R.; LOPEZ J.C. A DPCSV method for the determination of nickel in infant formulas. *Food Chemistry*, 1994, V. 49, N. 4, p. 427-430

BERMEJO-BARRERA P.; DOMINGUEZ-GONZALEZ R.; SOTO-FERREIRO R.; BERMEJO-BARRERA A. Use of the surfactant agents in the direct determination of zinc in milk samples by flame atomic absorption spectrometry. *Analisis*, 1995, V. 23, p. 135-136

FOSTER L.H.; SUMAR S. Methods of analysis used for the determination of selenium in milk and infant formulae : a review. *Food Chemistry*, 1995, V. 53, N. 4, p. 453-466

GARWIN J.L.; ROSENHOLTZ N.S.; ABDOLLAHI A. Two colorimetric assays for iodine in foods. *J. Food Sci.*, 1994, V. 59, N. 5, p. 1135-1143

☞ DETECTION RAPIDE D' ANTIBIOTIQUES - TRI

BELL C.; RHOADES J.R.; NEAVES P.; SCANNELLA D. An evaluation of the IDEXX SNAP test for the detection of β -lactam antibiotics in ex-farm raw milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 1995, V. 49, p. 15-25

GILBERTSON T.J.; MEJEUR R.L.; YEIN F.S.; JAGLAN P.S. Modified microbiological method for the screening of antibiotics in milk. *Journal of Dairy Science*, 1995, V. 78, p. 1032-1038

HARIK-KHAN R.; MOATS W.A. Identification and measurement of β -lactam antibiotic residues in milk : integration of screening kits with liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 1995, V. 78, N. 4, p. 978-986

MITCHELL M.; BODKIN B.; MARTIN J. Detection of β -lactam antibiotics in bulk tank milk. *Journal of Food Protection*, 1995, V. 58, N. 5, p. 577-578

SUHREN G.; REICHMUTH J.; BEER P. Evaluation des tests d'inhibition microbiologique. [*Traduction d'un article paru dans*] *DMZ Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, 1995, V. 116, N. 2, p. 56-61

🔍 MICROBIOLOGIE

L'amélioration des techniques de dénombrement de la flore totale reste d'actualité. Les pathogènes, eux, font l'objet de plusieurs travaux pour améliorer leur détection dans les environnements de fabrication. Et la biologie moléculaire sort de son champ habituel pour s'intéresser à *Clostridium tyrobutyricum*...

BRANGER A.; CUVILLIER I.; RABHI L. Dosage de l'ATP microbien pour l'estimation de la flore totale du lait cru. Lait, 1995, V. 75, p 295-299

JEPRAS R.I.; CARTER J.; PEARSON S.C.; PAUL F.E.; WILKINSON M.J. Development of a robust flow cytometric assay for determining numbers of viable bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1995, V. 61, N. 7, p. 2696-2701

REYBROECK W.; SCHRAM E. Improved filtration method to assess bacteriological quality of raw milk based on bioluminescence of adenosine triphosphate. Netherlands Milk and Dairy Journal, 1995, V. 49, p. 1-14

WILSON I.G. Use of the IUL Counter automatic colony counter for Spiral plated total viable counts. Applied and Environmental Microbiology, 1995, V. 61, N. 8, p. 3158-3160

FLANDERS K.J.; PRITCHARD T.J.; DONNELLY C.W. Enhanced recovery of *Listeria* from dairy-plant processing environments through combined use of repair enrichment and selective enrichment/detection procedures. Journal of Food Protection, 1995, V. 58, N. 4, p. 404-409

PRITCHARD T.J.; BELIVEAU C. M.; FLANDERS K.J.; DONNELLY C.W. Environmental surveillance of dairy processing plants for the presence of *Yersinia* species. Journal of Food Protection, 1995, V. 58, N. 4, p. 395-397

KLIJN N.; NIEUWENHOF F.F.J.; HOOLWERF J.D.; VAN DER WAALS C.B.; WEERKAMP A.H. Identification of *Clostridium tyrobutyricum* as the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification. Applied and Environmental Microbiology, 1995, V. 61, N. 8, p. 2919-2924

🔍 QUALITE

Des rappels de bases utiles

KENYON A.S.; BLACK J.C.; LAYLOFF T.P. Quality assurance in weighing. Journal of AOAC International, 1995, V. 78, N. 4, p. 1109-1111

LECHNER E. L'assurance qualité en analyse enzymatique [traduction d'un article paru dans]. Milchwirtschaftliche Berichte aus den Bundesanstalten Wolfpassing und Rotholz, 1994, V. 119, p. 74-77

Vous pourrez obtenir la liste complète des références sélectionnées au cours du dernier trimestre sur simple demande à CECALAIT.