



THE GLOBAL STANDARD FOR LIVESTOCK DATA

Procedura 2 Części 12 Wytycznych ICAR - Wytyczne dotyczące stosowania materiału odniesienia certyfikowanego przez EC JRC do zliczania komórek somatycznych w mleku

Wersja: czerwiec 2021

Oficjalna, zatwierdzona przez ICAR, jest wyłącznie wersja angielska Wytycznych dostępna [tutaj](#).

Spis treści

1	Tło	3
2	Opis materiału odniesienia certyfikowanego przez EC JRC	3
3	Zastosowanie materiału odniesienia certyfikowanego przez EC JRC.....	4
4	Weryfikacja działania metody.....	4
5	Weryfikacja / regulacja ustawień kalibracji metodami rutynowymi.	5
6	Przypisywanie wartości odniesienia do wtórnego materiału odniesienia (<i>Secondary Reference Material</i> - SRM).....	10
7	Zastosowanie w badaniach biegłości	12
8	Przejsie ustawień kalibracji metod rutynowych.....	12
9	Literatura	14
10	Podziękowania.....	14

Summary of Changes

Date of Change	Nature of Change
March 2021	Draft submitted by Milk Analysis Sub Committee for approval.

1 Tło

Liczba komórek somatycznych w mleku (LKS) jest szeroko stosowanym wskaźnikiem do monitorowania zdrowia wymion kilku gatunków ssaków i ma znaczenie w przepisach dotyczących higieny żywności, kontroli płatności za mleko, zarządzaniu gospodarstwem i programach hodowlanych [3]. W lutym 2020 r. Wspólne Centrum Badawcze Komisji Europejskiej (EC JRC) uruchomiło nowy certyfikowany materiał odniesienia (CRM ERM[®]-BD001) do zliczania komórek somatycznych w mleku. Przygotowanie go jest jednym z wymiernych rezultatów ścisłej współpracy między Międzynarodową Federacją Mleczarską (IDF), Międzynarodowym Komitetem ds. Rejestracji Zwierząt (ICAR) i EC JRC w zakresie opracowywania rozwiązań i narzędzi promujących lepszą globalną równowagę w liczeniu komórek somatycznych w mleku.

2 Opis materiału odniesienia certyfikowanego przez EC JRC

Zestawy CRM ERM[®]-BD001 są dostępne w EC JRC oraz u jego autoryzowanych dystrybutorów i są dostarczane w saszetkach, patrz <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/ERM-BD001>. Każda saszetka zawiera dwie butelki z 14g suszonego mleka krowiego w atmosferze gazu obojętnego (argonu), ERM[®]-BD001a z niską LKS oraz ERM[®]-BD001b z wysoką LKS. Postępując zgodnie z załączonymi instrukcjami dotyczącymi protokołów odtwarzania w wodzie podwójnie destylowanej lub ultra czystej/jakości typu 1 o temperaturze 40°C, otrzymane próbki będą zawierały odpowiednio około 60.000 i 1.200.000 komórek/ml. Podane certyfikowane wartości odniesienia dla otrzymanych dwóch próbek cieczy są oparte na bezpośrednim zliczaniu mikroskopowym zgodnie z ISO 13366-1 IIDF 148-1 [6] lub rozdziałem 10 w Standardowych metodach badania produktów mleczarskich [1] i liczeniu elektronicznym zgodnie z ISO 13366-2 IIDF 148-2 [7] lub rozdziałem 11.032 w Standardowych metodach badania produktów mleczarskich [1]. W przypadku pierwszej serii w badaniu charakterystyki uczestniczyły łącznie trzydzieści dwa laboratoria na całym świecie. Podane certyfikowane wartości odniesienia należy traktować jako wiarygodne szacunki prawdziwych wartości LKS tych materiałów. Po odtworzeniu próbki mogą być używane w takiej formie w jakiej są, ale dwie odtworzone próbki można również mieszać w różnych proporcjach, aby uzyskać próbki o wartościach mieszczących się między wartościami LKS podanymi dla dwóch

odtworzonych próbek. Więcej informacji na temat materiałów oraz ich charakterystykę można znaleźć w raporcie certyfikacyjnym [2], który jest dostępny na wyżej wymienionej stronie internetowej.

3 Zastosowanie materiału odniesienia certyfikowanego przez EC JRC

CRM ERM[®]-BD001 może być używany do wielu celów, jak opisano to w następujących paragrafach.

4 Weryfikacja działania metody

Materiały CRM ERM[®]-BD001 i ich certyfikowane wartości odniesienia, z podaną informacją o niepewności, mogą być używane zarówno przez użytkowników metod referencyjnych, jak i rutynowych do weryfikacji, czy ich metoda działa poprawnie. Przy weryfikacji działania metody należy zastosować weryfikację metody referencyjnej, podane certyfikowane wartości referencyjne i związane z nimi informacje dotyczące niepewności oparte na przyjętych zestawach danych metody referencyjnej. Wartości te podane są oparte wyłącznie na zaakceptowanych wynikach pomiarów zgodnych z ISO 13366-1|IDF 148-1 [6]. W przypadku weryfikacji działania metody rutynowej zaleca się pracę z wartościami opartymi na połączonej puli danych 50/50, pochodzącej ze zbiorów parametrów dla metody referencyjnej i losowo wybranych zestawów danych metod rutynowych. Te przypisane wartości mają mniejszą niepewność.

Przed weryfikacją działania metody z materiałami CRM ERM[®]-BD001 należy ocenić, czy metoda działa prawidłowo. W przypadku metody referencyjnej oznacza to spełnienie wymagań w zakresie prawidłowych wymiarów pola mikroskopu i powtarzalności. W przypadku powszechnie stosowanej rutynowej metody z liczeniem fluoro-opto-elektronicznym oznacza to spełnienie wymagań w odniesieniu do kontroli ślepej próby, błędu przenoszenia, efektu liniowości, innych krytycznych aspektów specyficznych dla metody i powtarzalności. Wskazówki, patrz ISO 13366-2 | IDF 148-2 [7].

Do weryfikacji działania metody można zastosować procedurę zgodną z raportem certyfikacyjnym [2]:

- a. Zmierzyć każdą próbkę w co najmniej dwóch powtórzeniach i obliczyć średnią zmierzona wartość, \bar{y}_i .
- b. Obliczyć dla każdej próbki bezwzględną różnicę $\Delta_{i,meas}$ między \bar{y}_i a certyfikowaną wartością, $x_{i,CRM}$:

$$\Delta_{i,meas} = | \bar{y}_i - x_{i,CRM} | \quad (1)$$

- c. Na certyfikacie umieścić niepewność pomiaru obliczoną wg wzoru łączącego średnią niepewność $u_{i,meas}$ dla y_i z niepewnością wartości certyfikowanej $u_{i,CRM}$:

$$u_{i,\Delta} = \sqrt{u_{i,meas}^2 + u_{i,CRM}^2} \quad (2)$$

- d. Obliczyć niepewność rozszerzoną, $U_{i,\Delta}$ z niepewności złożonej, $u_{i,\Delta}$, stosując odpowiedni współczynnik rozszerzenia, odpowiadający poziomowi ufności około 95%:

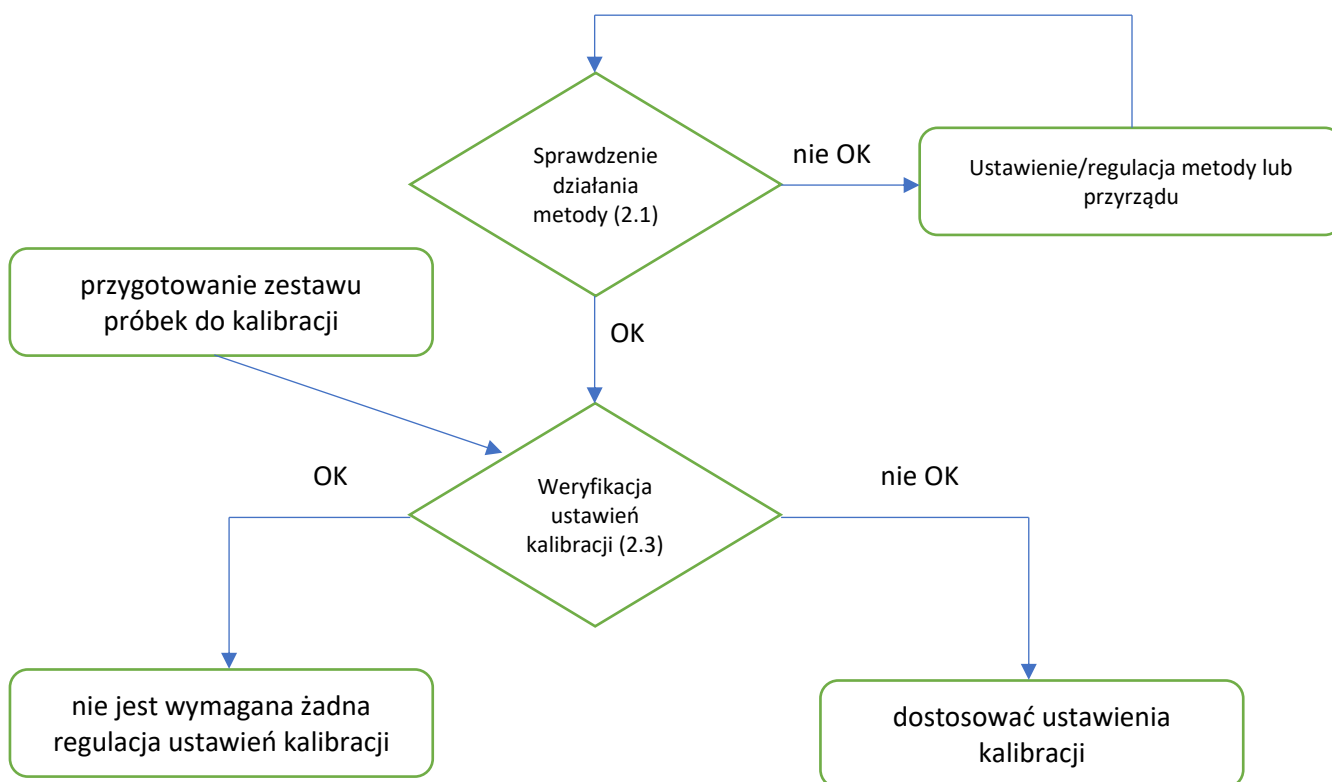
$$U_{i,\Delta} = 2 * u_{i,\Delta} \quad (3)$$

- e. Jeśli $\Delta_{i,meas} < U_{i,\Delta}$ wtedy nie ma znaczącej różnicy między wynikiem pomiaru a certyfikowaną wartością przy poziomie ufności około 95%.

5 Weryfikacja / regulacja ustawień kalibracji metodami rutynowymi.

Liczenie komórek somatycznych na dużą skalę polega na stosowaniu rutynowych metod, takich jak liczenie fluor-opto-elektroniczne. Wyniki uzyskane przy użyciu tych metod podlegają różnicom między różnymi metodami, różnymi laboratoriami, różnymi instrumentami i w czasie. Dlatego istotne jest, aby rutynowe metody były odpowiednio kalibrowane względem odniesienia i często sprawdzane, czy ustawienia kalibracji są nadal prawidłowe. Jeżeli wyniki bezpośredniej mikroskopowej metody referencyjnej do zliczania komórek somatycznych mają ograniczoną precyzję, zestaw próbek kalibracyjnych przygotowany z materiałów CRM ERM®-DB001 z podanymi wartościami referencyjnymi może służyć jako stabilna i solidna alternatywa.

Zaleca się wykonanie wieloetapowej procedury zgodnie z rysunkiem 1.



Rysunek 1: Schemat blokowy przedstawiający weryfikację ustawień kalibracji metod rutynowych

5.1 Sprawdzenie prawidłowego funkcjonowania metody rutynowej

Przed weryfikacją ustawień kalibracji metody rutynowej należy ocenić, czy metoda rutynowa działa prawidłowo i spełnia wymagania w odniesieniu do kontroli ślepej próby, wpływu błędu przenoszenia, innych krytycznych aspektów specyficznych dla metody i powtarzalności. Aby uzyskać dalsze wskazówki dotyczące kontroli z licznikami fluoro-opto-elektronicznymi, patrz ISO 13366-2| IDF 148-2 [7].

5.2 Przygotowanie zestawu próbek do weryfikacji / regulacji ustawień kalibracji

Zestaw próbek do weryfikacji / regulacji ustawień kalibracji metody rutynowej można przygotować przez zmieszanie odtworzonego materiału próbki z ERM[®]-BD001a i ERM[®]-BD001b w różnych proporcjach, zgodnie z protokołami instrukcji dostarczonymi z materiałami. Spowoduje to otrzymanie zestawu próbek z co najmniej pięcioma poziomami liczby komórek z równomiernym rozkładem od certyfikowanej wartości odniesienia ERM[®] -BD001a do certyfikowanej wartości odniesienia ERM[®]-

BD001b. Zalecenie stosowania podanych wartości odniesienia w oparciu o połączoną pulę danych 50/50 pochodzących ze zbiorów danych metod referencyjnych i losowo wybranych zestawów danych metod rutynowych [2] jest zgodne z wytycznymi zawartymi w ISO 13366-2 | IDF 148- 2 [7] w sprawie stosowania odpowiednich materiałów kalibracyjnych. Wartość odniesienia dla każdej próbki można obliczyć ze względnej ilości ERM[®]-BD001a i ERM[®]-BD001b w każdej próbce. Uzyskany zestaw próbek umożliwia weryfikację i, jeśli to konieczne, dostosowanie ustawień kalibracji zgodnie z zaleceniami ISO 13366-2 | IDF 148-2 [7] i ISO 8196-2 | IDF 128-2 [5], patrz następny akapit.

5.3 Weryfikacja / regulacja ustawień kalibracji

UWAGA 1

Podejście przedstawione w tym paragrafie jest oparte na zwykłym modelu regresji najmniejszych kwadratów z podstawowym warunkiem wstępnym przybliżonej stałości w rozkładzie reszt w całym zakresie kalibracji. W przeciwnym razie należy przekształcić dane, aby wyrównać wariancję resztową w całym zakresie. Z doświadczenia wynika, że dobrym rozwiązaniem może być transformacja pierwiastka kwadratowego.

UWAGA 2

Podczas pracy z certyfikowanymi materiałami odniesienia przyjmuje się, że błąd w obliczonych wartościach odniesienia dla próbek w zestawie próbek kalibracyjnych jest pomijalny. Dlatego obliczone wartości odniesienia należy wykreślić na osi x, a średnią wartości rutynowych metod na osi y. Należy zauważyć, że jest to sprzeczne z sytuacją w rutynowych testach, w których rzeczywistą wartość szacuje się na podstawie rutynowego pomiaru metodą poprzez zastosowanie ustawień nachylenia (*slope*) i punktu przecięcia (*intercept*):

$$x_{est} = slope * y + intercept \quad (4)$$

gdzie

x_{est} = oszacowanie wartości

prawdziwej

y = odczyt z urządzenia

a. W celu weryfikacji ustawień nachylenia (*slope*) i miejsca przecięcia (*intercept*) w

rutynowej metodzie, zestaw próbek kalibracyjnych należy mierzyć przy bieżących ustawieniach nachylenia (*slope*) i punktu przecięcia (*intercept*).

- b. Zmierzyć każdą próbkę zestawu próbek kalibracyjnych metodą rutynową w co najmniej dwóch powtórzeniach. Obliczyć średnią wartość \bar{y}_i dla każdej próbki.
- c. Wykreślić obliczone wartości odniesienia, x_i , oraz poszczególne wartości średnie otrzymane rutynową metodą, \bar{y}_i , próbek q na wykresie osi XY. Sprawdzić rozkład punktów danych, które powinny być liniowe, regularne i jednorodne. Jeżeli co najmniej jeden punkt danych znacznie odbiega od liniowej tendencji, należy sprawdzić przygotowanie zestawu próbek, obliczenie wartości odniesienia i działanie rutynowej metody. W razie potrzeby powtórzyć pomiary.
- d. Dla zebranych wartości z zestawem próbki kalibracyjnej obliczyć równanie regresji, $\bar{y}_i = b \cdot x_i + a$, stosując zwykłą metodę najmniejszych kwadratów.
- e. Obliczyć resztowe odchylenie standardowe z regresji, s_{yx} :

$$s_{yx} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^q (\bar{y}_i - a - b \cdot x_i)^2}{q-2}} \quad (5)$$

- f. Zebrać lub obliczyć wartości b_c i a_c , odpowiadające bieżącym ustawieniom nachylenia (*slope*) i punktu przecięcia (*intercept*):

$$b_c = 1/\text{slope}_c \quad (6)$$

oraz

$$a_c = -\text{intercept}_c/\text{slope}_c \quad (7)$$

gdzie

slope_c = aktualne ustawienie nachylenia

intercept_c = aktualne ustawienie punktu przecięcia z

osią

- g. Sprawdzić, czy obliczona wartość b różni się istotnie statystycznie od wartości b_c .

W tym celu oblicz odchylenie standardowe dla b :

$$s_b = \left(\frac{s_{yx}^2}{SS_x} \right)^{1/2} \quad (8)$$

gdzie

$$SS_x = \sum_{i=1}^q (x_i - \bar{x})^2 \quad (9)$$

Stosując 95% przedział ufności, bieżące nachylenie (*slope*) jest nadal poprawne, jeśli:

$$b - t_{0,975} \cdot s_b \leq b_c \leq b + t_{0,975} \cdot s_b \quad (10)$$

gdzie $t_{0,975}$ jest 0,975 kwantylem rozkładu Studenta z $q-2$ stopniami swobody.

- h. Sprawdzić, czy średnie odchylenie $|\bar{x} - \bar{y}(\bar{x})|$ różni się istotnie statystycznie od wartości a przy bieżącej kalibracji, a_c .

W tym celu obliczyć błąd standardowy równania regresji:

$$s_{\bar{y}\bar{x}} = \frac{s_{yx}}{\sqrt{q}} \quad (11)$$

gdzie q jest liczbą próbek kalibracyjnych.

Średnie odchylenie jest nadal poprawne, jeśli się zgadza z:

$$|\bar{x} - \bar{y}(\bar{x})| - t_{0,975} \cdot s_{yx} \leq a_c \leq |\bar{x} - \bar{y}(\bar{x})| + t_{0,975} \cdot s_{yx} \quad (12)$$

gdzie $t_{0,975}$ jest 0,975 kwantylem rozkładu Studenta z $q-2$ stopniami swobody a $\bar{y}(\bar{x})$ zostało oszacowane z \bar{x} z wykorzystaniem wzoru $\bar{y}(\bar{x}) = b \cdot \bar{x} + a$.

Jeśli zarówno test nachylenia, jak i średnie odchylenie są ujemne, a nie różni się statystycznie od a_c jeśli

$$a - t_{0,975} \cdot s_a \leq a_c \leq a + t_{0,975} \cdot s_a \quad (13)$$

gdzie

$$s_a = s_{yx} \left(\frac{1}{q} + \frac{\bar{x}^2}{SS_x} \right)^{1/2} \quad (14)$$

Aby uzyskać więcej informacji na temat tej procedury weryfikacji, zobacz ISO 8196-2IIDF 128-2 [5].

- i. Korekta kalibracji jest konieczna, jeśli wynik jednego z testów zgodnie z g. lub h. jest ujemny, to znaczy, jeśli jedno z wymagań nie jest spełnione. W takim przypadku otrzymane wartości dla nowego nachylenia (slope), $slope_n$ i nowego punktu przecięcia (intercept) z osią $intercept_n$ są równe:

$$slope_n = 1/b \quad (15)$$

oraz

$$intercept_n = -a/b \quad (16)$$

Zapisz obliczone wartości a , b oraz $slope_n$ i $intercept_n$ w celu przyszłej weryfikacji.

W przypadku powszechnie stosowanych metod fluoro-opto-elektronicznych zgodnie z ISO 13366-2 IIDF 148-2 [7] należy spodziewać się wartości slope $1,00 \pm 0,10$ i wartości intercept $0 \pm 50\ 000$ komórek / ml w przypadku zwykłej regresji metodą najmniejszych kwadratów z danymi nietransformowanymi.

6 Przypisywanie wartości odniesienia do wtórnego materiału odniesienia (*Secondary Reference Material - SRM*)

W wielu sytuacjach tak zwane SRM mogłyby zapewnić bardziej praktyczne i / lub bardziej ekonomiczne środki umożliwiające identyfikowalny punkt odniesienia wyników testów rutynowych. SRM mogą być używane do celów kalibracji lub jako próbki pilotażowe między pomiarami. Do każdego SRM można przypisać odpowiednie wartości odniesienia, stosując podejście porównawcze do charakterystyki SRM [8].

W tym celu podobny SRM z mniej więcej równą LKS należy analizować jednocześnie z CRM przy użyciu dobrze funkcjonującej rutynowej metody w stałych warunkach. LKS materiału CRM można wyregulować, mieszając ERM[®]-BD001a i ERM[®]-BD001b w odpowiednim stosunku i obliczając odpowiednią wartość odniesienia, patrz paragraf 5.2.

Niepewność mieszanego materiału CRM, zmiksowanego CRM, można obliczyć ze wzoru:

$$u_{mixed\ CRM} = \sqrt{u_{CRM\ BD0001a}^2 * f_{CRM\ BD0001a}^2 + u_{CRM\ BD0001b}^2 * f_{CRM\ BD0001b}^2} \quad (17)$$

gdzie

$U_{CRM\ BD001a}$ = niepewność certyfikowanej wartości dla CRM ERM®-BD001a

$U_{CRM\ BD001b}$ = niepewność z certyfikowanej wartości dla CRM ERM®-BD001b

$f_{CRM\ BD001a}$ = objętość frakcji CRM ERM®-BD001a w zmieszanej próbce

$f_{CRM\ BD001b}$ = objętość frakcji CRM ERM®-BD001b w zmieszanej próbce

- Przygotować taką objętość (zmieszanych) CRM i SRM, która pozwoli na co najmniej 15 (= n) powtórzeń pomiarów parami, tym samym instrumentem, w tym samym laboratorium, bezpośrednio po sobie, zapewniając sparowane wartości $C_{i, CRM}$ i $C_{i, SRM}$ pochodzących z dwóch kolejnych pomiarów.
- Dla każdego pomiaru parami obliczyć różnicę E_i między dwoma wynikami:

$$E_i = C_{i, SRM} - C_{i, CRM} \quad (18)$$

- Zakładając addytywność odchylenia dla mniej więcej równych wartości LKS, można teraz obliczyć wartość odniesienia dla SRM, x_{SRM} :

$$x_{CRM} = C_{CRM} + E_{avg} \quad (19)$$

gdzie

$$C_{CRM} \text{ jest wartością referencyjną (mieszanego) CRM i } E_{avg} = \sum_{i=1}^n E_i / n \quad (20)$$

- Niepewność standardowa z wartością odniesienia dla SRM, u_{SRM} , wynosi:

$$u_{SRM} = \sqrt{U_{CRM}^2 + u_{E_{avg}}^2} \quad (21)$$

gdzie u_{CRM} jest standardową niepewnością wartości przenoszonej przez CRM oraz

$$u_{E_{avg}}^2 = \sum_{i=1}^n (E_i - E_{avg})^2 / ((n - 1) \cdot n) \quad (22)$$

- Niepewność rozszerzona, U_{SRM} , wynosi:

$$U_{SRM} = 2u_{SRM} \quad (23)$$

7 Zastosowanie w badaniach biegiłości

CRM ERM®-BD001 jest stabilny i posiada certyfikowane wartości odniesienia.

Dlatego może służyć jako solidna próbka odniesienia, gdy jest włączona do zestawów próbek do badania biegiłości. Alternatywnie w tym celu można uwzględnić jeden lub więcej SRM z przypisanymi wartościami odniesienia zgodnie z wcześniej opisaną procedurą według Kuselman et al. (2002) [8].

UWAGA 3

Plik obliczeniowy Excel, który z łatwością wykonuje wyżej opisane obliczenia w celu weryfikacji działania metody, weryfikacji ustawień kalibracji metody rutynowej oraz przypisania wartości odniesienia do SRM, można pobrać pod adresem <https://www.icar.org/Excel-templates-with-guidance-on-use-ECJRCCRMSCC.xls>.

Tym samym ten plik obliczeniowy Excel umożliwia połączenie weryfikacji wydajności metody, liniowości i ustawień kalibracji w jednej procedurze. Jedynym dodatkowym warunkiem jest, aby każda próbka zestawu próbek do weryfikacji ustawień kalibracji była mierzona w co najmniej 15 powtórzeniach.

8 Przejście ustawień kalibracji metod rutynowych

Zastosowanie CRM ERM®-BD001 do kalibracji metod rutynowych oznacza zmianę punktu odniesienia dla liczenia komórek somatycznych w mleku. Może to nastąpić wraz ze znaczną zmianą ustawień kalibracji za pomocą metod rutynowych, a w konsekwencji rutynowych wyników pomiarów. Zakres tego będzie różny w zależności od laboratoriów i regionów, w zależności od dotychczas stosowanych systemów odniesienia. Należy zauważyć, że w przypadku spodziewanego większego przesunięcia, ponownej oceny mogą wymagać również granice regulacyjne, wartości graniczne w systemach płatności za mleko i / lub w programach monitorowania stanu zdrowia wymion. Dlatego zaleca się, aby laboratoria, które zauważą dużą zmianę w poziomie liczenia przy przejściu na CRM ERM®-BD001, skontaktowały się z odpowiednimi organami regulacyjnymi i nadzorującymi oraz innymi interesariuszami w celu ustalenia optymalnego przejścia.

Do rozważenia możliwe są między innymi następujące aspekty :

- Zakres przesunięcia poziomu zliczania przy stosowaniu materiałów CRM ERM®-BD001 z ich podanymi certyfikowanymi wartościami odniesienia.

- Zaangażowanie podmiotów zajmujących się zliczaniem komórek somatycznych (laboratoriów, lekarzy weterynarii, rolników) na obszarach geograficznych zgodnie z ich działalnością i potrzeba dostosowania w okresie przejściowym.
- Zaangażowanie organów regulacyjnych i nadzorujących. Potrzeba i możliwości towarzyszącej ponownej oceny granic regulacyjnych, wartości dopuszczalnych w płatnościach za mleko i / lub programach zdrowotnych wymion.
- Konsekwencje dla wydajności laboratoriów w badaniach biegłości. Jaki system odniesienia stosują inne uczestniczące laboratoria? Czy konieczne są zmiany w badaniach biegłości i ocenie ich wyników?
- Konsekwencje dla protokołów laboratoryjnych.
- Czas przejścia. Kiedy najlepiej dokonać zmiany? Czy będzie to zrobione w jednym kroku, czy w wielu krokach?
- Komunikacja z odpowiednimi interesariuszami. Co? Do kogo?

Ponieważ sytuacje będą się znacznie różnić, należy opracować lokalne podejścia dostosowane do potrzeb.

W przypadku wyboru przejścia w wielu krokach, lokalny poziom zliczania będzie stopniowo dostosowywany do poziomu zliczania, który w pełni pokrywa się z podanymi wartościami odniesienia CRM ERM[®]-BD001. Oczekuje się, że w stosownych przypadkach wystarczy przejście w dwóch lub trzech etapach.

Pragmatyczna procedura wykonywania tych kroków jest przeprowadzana w ściśle kontrolowanych i odpowiednio zabezpieczonych warunkach, aby zmierzyć odtworzone materiały CRM ERM[®]-BD001 przy bieżących ustawieniach kalibracji w dwóch powtórzeniach oraz, po usunięciu możliwych odbiegających wyników, obliczyć średnią wartość dla obu próbek ERM[®]-BD001a i ERM[®]-BD001b, odpowiednio $\bar{x}_{a,local}$ i $\bar{x}_{b,local}$. Z tych wartości i podanych wartości odniesienia z CRM ERM[®]-BD001, $x_{a,CRM}$ i $x_{b,CRM}$, można obliczyć tymczasowe lokalne wartości odniesienia, $x_{a,CRM}$ *intermediate* i $x_{b,CRM}$ *intermediate* oraz przypisać je do dwóch odtworzonych materiałów odniesienia.

Przykład: W przypadku przejścia dwuetapowego można ustawić pośrednie lokalne

wartości odniesienia na:

$$x_{a,CRM\ intermediate} = (\bar{x}_{a, local} + x_{a, CRM})/2 \quad \text{oraz} \quad x_{b,CRM\ intermediate} = (\bar{x}_{b, local} + x_{a, CRM})/2 \quad (24)$$

Takie materiały z pośrednimi lokalnie przypisanymi wartościami odniesienia mogą być używane w fazie przejściowej zgodnie z przywołanymi normami międzynarodowymi i wytycznymi zawartymi w tym dokumencie, odnotowując w ten sposób stan pośredni tych przypisanych wartości odniesienia i unikając wszelkich sugestii, że wynikowe poziomy liczenia w rutynach będą możliwe do prześledzenia. do CRM ERM®-BD001.

9 Literatura

- a. American Public Health Association. (2012) Standard methods for the examination of dairy products, 17th ed. APHA Press.
- b. EC Joint Research Centre. (2020) Certification report. The certification of the concentration of somatic cells (somatic cell count, SCC) in cow's milk: ERM®-BD001. Available through: <https://crm.jrc.ec.europa.eu/p/ERM-BD001>
- c. IDF. (2008) Towards A Reference System For Somatic Cell Counting In Milk. Bull IDF 427.
- d. ISO 8196-11 IDF 128-1. (2009) Milk — Definition and evaluation of the overall accuracy of alternative methods of milk analysis — Part 1: Part 1: Analytical attributes and evaluation of the overall accuracy of alternative methods.
- e. ISO 8196-2IIIDF 128-2. (2009) Milk — Definition and evaluation of the overall accuracy of alternative methods of milk analysis — Part 2: Calibration and quality control in the dairy laboratory.
- f. ISO 13366-11 IDF 148-1. (2008) Milk - Enumeration of somatic cells - Part 1: Microscopic method (Reference method).
- g. ISO 13366-2IIIDF 148-2. (2006) Milk - Enumeration of somatic cells - Part 2: Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters.
- h. Kuselman, I., Weisman, A. & Wegscheider, W. (2002) Traceable property values of inhouse reference materials. Accred Qual Assur 7 p122-124.

10 Podziękowania

- Harrie van den Bijgaart, Qlip B.V., The Netherlands, hijgaart@qlip.nl

- Silvia Orlandini, International Committee on Animal Recording, The Netherlands, silvia@icar.org
- Werner Luginbuhl, ChemStat, Switzerland, info@chemstat.ch