

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »

CAMPAGNE COMPLEMENTAIRE

4 MAI 2010

RAPPORT GENERAL

L. ALI-MANDJEE, V. CARLIER et J.-C. AUGUSTIN

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 MAISONS-ALFORT CEDEX

1. CONSIDERATIONS GENERALES

1.1. LABORATOIRES PARTICIPANTS

48 laboratoires ont participé à la campagne complémentaire du 4 mai 2010.

46 réponses nous sont parvenues.

1.2. DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS

| Réception | J0 | J0+1 | J0+2 | J0+3 | J0+5 | J0+7 | J0+15 |
|--------------------|----|------|------|------|------|------|-------|
| Nb de laboratoires | 5 | 32 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 |

1.3. RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LES ECHANTILLONS

1.3.1. NATURE DES ECHANTILLONS

- 1 échantillon contenait une souche d'*Enterococcus sp.* à une concentration d'environ 5.10^5 ufc/g
- 1 échantillon contenait une souche de *Citrobacter sp.* à une concentration d'environ 10^5 ufc/g et une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 5.10^4 ufc/g ;
- 1 échantillon contenait une souche de *Lactobacillus plantarum* à une concentration d'environ 5.10^4 ufc/g ;
- 1 échantillon contenait une souche de *Pseudomonas sp.* à une concentration d'environ 10^6 ufc/g ;
- 1 échantillon contenait une souche de *Bacillus cereus* à une concentration d'environ 10^4 ufc/g ;
- 1 échantillon contenait une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 5.10^5 ufc/g.

1.3.2. TAILLE

Les échantillons étaient constitués d'un gel et étaient conditionnés en flacons d'environ 50 grammes.

1.3.3. CONTROLE DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE DE LA CONTAMINATION

Un contrôle de l'homogénéité de la contamination a été réalisé sur 10 flacons par dénombrement en double pour toutes les flores.

La stabilité de la contamination a été contrôlée par dénombrement de toutes les flores les 10, 17 et 25 mai 2010.

Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant sous accréditation Cofrac pour les micro-organismes aérobies mésophiles, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, entérobactéries, *Escherichia coli* et la flore lactique. Le contrôle des *Pseudomonas* a été réalisé hors accréditation Cofrac par le même laboratoire.

1.3.4. FLORES A DENOMBRER

Il était proposé le dénombrement des flores suivantes :

- Micro-organismes aérobies mésophiles ;
- *Listeria monocytogenes* ;
- Entérobactéries / Coliformes totaux et thermotolérants / *Escherichia coli* beta-glucuronidase + ;
- Bactéries lactiques ;
- *Pseudomonas* ;
- *Bacillus cereus*.

1.4. MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES

1.4.1. DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS

46 laboratoires le précisent.

| Délai analyse | J0 | J0+1 | J0+2 | J0+3 | J0+6 | J0+7 | J0+10 | J0+13 | J0+14 | J0+15 | J0+16 |
|--------------------|----|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Nb de laboratoires | 1 | 5 | 6 | 3 | 14 | 6 | 1 | 6 | 2 | 1 | 1 |

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

45 laboratoires la précisent. La température moyenne est de 3.2°C avec un écart-type de 4.3°C.

2. EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSES

2.1. TAILLE DE LA PRISE D'ESSAI

46 laboratoires la précisent.

La taille moyenne est de 15.7 g avec un écart-type de 7.0 g.

2.2. TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES

44 laboratoires (95.7%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.

2 laboratoires (4.3%) utilisent une autre technique (manuelle, magnétique ou autre).

La durée moyenne est de 3.0 min avec un écart-type de 4.2 min.

2.3. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

2.3.1. DUREE

43 laboratoires la précisent.

La durée moyenne est de 25.4 min avec un écart-type de 16.3 min.

2.3.2. TEMPERATURE

41 laboratoires la précisent.

La température moyenne est de 21.3°C avec un écart-type de 5.5°C.

2.4. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

15 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-----------------|-----------------|
| NF EN ISO 4833 | 12 |
| BIO 12/15-09/05 | 1 |
| Autres | 2 |
| + spiral | 2 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|-----------|-----------------|
| PCA | 14 |
| Tempo TVC | 1 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 8 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 6 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 1 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 13 | 2 |
| Test de stérilité | 13 | 2 |
| Vérification pH | 14 | 1 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 15 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24 h | 1 |
| 48 h | 1 |
| 72 h | 13 |

2.5. LISTERIA MONOCYTOGENES

12 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-------------------|-----------------|
| NF EN ISO 11290-2 | 9 |
| AES 10/05-09/06 | 1 |
| Autres | 2 |

| Milieu de revivification | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| EPT | 11 |
| UVM | 1 |

| Milieu d'isolement | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| Ottaviani & Agosti | 7 |
| Palcam | 2 |
| Oxford | 1 |
| Compass | 1 |
| CHROMagar Listeria | 1 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|---------------------------|-----------------|
| Sur place | 4 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 8 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 10 | 2 |
| Test de stérilité | 11 | 1 |
| Vérification pH | 12 | 0 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 1 |
| 37°C | 11 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24 h | 1 |
| 48 h | 11 |

| Confirmation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| Aucune | 2 |
| Biochimique | 6 |
| Biochimique + CAMP | 4 |

2.6. ENTEROBACTERIES

22 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-------------------|-----------------|
| NF V08-054 | 10 |
| NF EN ISO 21528-2 | 5 |
| 3M-01/06-09/97 | 1 |
| AES-10/07-01/08 | 4 |
| Autres | 2 |
| + spiral | 1 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|-----------|-----------------|
| VRBG | 14 |
| Petrifilm | 1 |
| Rebecca | 4 |
| Autres | 3 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 9 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 13 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 18 | 4 |
| Test de stérilité | 21 | 1 |
| Vérification pH | 19 | 3 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 14 |
| 37°C | 8 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24h | 21 |
| 48 h | 1 |

2.7. COLIFORMES TOTAUX

17 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|----------------|-----------------|
| NF V08-050 | 12 |
| NF EN ISO 4832 | 2 |
| Autres | 3 |
| + spiral | 1 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|--------|-----------------|
| VRBL | 15 |
| Autres | 2 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 7 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 10 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 14 | 3 |
| Test de stérilité | 16 | 1 |
| Vérification pH | 14 | 3 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 14 |
| 37°C | 2 |
| 44°C | 1 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24 h | 17 |

2.8. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

15 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-----------------|-----------------|
| NF V08-060 | 12 |
| NF EN ISO 4832 | 1 |
| 3M 01/02-09/89C | 1 |
| Autres | 1 |
| + spiral | 1 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|-----------|-----------------|
| VRBL | 14 |
| Petrifilm | 1 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 5 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 9 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 1 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 12 | 3 |
| Test de stérilité | 14 | 1 |
| Vérification pH | 12 | 3 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 1 |
| 44°C | 14 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24 h | 15 |

2.9. ESCHERICHIA COLI

20 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-------------------|-----------------|
| NF V08-053 | 1 |
| NF EN ISO 16649-2 | 9 |
| 3M 01/08-06/01 | 2 |
| BIO 12/05-01/99 | 1 |
| BIO 12/13-02/05 | 1 |
| AES 10/06-01/08 | 3 |
| Autres | 3 |
| + spiral | 1 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|-------------|-----------------|
| TBX | 9 |
| Rebecca | 3 |
| Petrifilm | 2 |
| Rapid Ecoli | 2 |
| Coli ID | 1 |
| Tempo EC | 1 |
| Autres | 2 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 6 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 11 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 3 |

| Oui | Non |
|-------------------|------|
| Test de fertilité | 18 2 |
| Test de stérilité | 19 1 |
| Vérification pH | 17 3 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 37°C | 7 |
| 42-44°C | 13 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 20-24 h | 20 |

2.10. BACTERIES LACTIQUES

33 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-----------------|-----------------|
| NF EN ISO 15214 | 21 |
| NF V04-503 | 7 |
| Autres | 4 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|------------|-----------------|
| MRS pH 5.7 | 31 |
| Autres | 2 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 10 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 20 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 3 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 23 | 10 |
| Test de stérilité | 28 | 5 |
| Vérification pH | 28 | 5 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 20°C | 1 |
| 25°C | 4 |
| 30°C | 27 |
| 37°C | 1 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 48 h | 6 |
| 68-73 h | 27 |

2.11. PSEUDOMONAS

26 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-----------------|-----------------|
| NF V04-504 | 19 |
| NF EN ISO 13720 | 4 |
| Autres | 3 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|--------|-----------------|
| CFC | 24 |
| Autres | 2 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 11 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 12 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 3 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 18 | 8 |
| Test de stérilité | 21 | 5 |
| Vérification pH | 22 | 4 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 22°C | 1 |
| 25°C | 23 |
| 37°C | 1 |
| 44°C | 1 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 24 h | 1 |
| 47-48h | 22 |
| 72 h | 3 |

| Confirmation | Nb laboratoires |
|--------------|-----------------|
| Aucune | 7 |
| Oxydase | 19 |

2.12. BACILLUS CEREUS

34 laboratoires réalisent le dénombrement.

| Méthode | Nb laboratoires |
|-----------------|-----------------|
| NF EN ISO 7932 | 21 |
| NF EN ISO 21871 | 1 |
| BKR 23/06-02/10 | 5 |
| Autres | 7 |
| + spiral | 1 |

| Milieu | Nb laboratoires |
|---------|-----------------|
| Mossel | 20 |
| Compass | 6 |
| Bacara | 2 |
| Autres | 6 |

| Mode de préparation | Nb laboratoires |
|-------------------------------|-----------------|
| Sur place | 6 |
| Prêt à l'emploi non pré-coulé | 6 |
| Prêt à l'emploi pré-coulé | 22 |

| | Oui | Non |
|-------------------|-----|-----|
| Test de fertilité | 24 | 10 |
| Test de stérilité | 27 | 7 |
| Vérification pH | 26 | 8 |

| Température d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------------|-----------------|
| 30°C | 30 |
| 37°C | 4 |

| Durée d'incubation | Nb laboratoires |
|--------------------|-----------------|
| 22-24 h | 22 |
| 42-48 h | 11 |
| 72 h | 1 |

| Confirmation | Nb laboratoires |
|-----------------------------|-----------------|
| Aucune | 15 |
| Biochimique (dont hémolyse) | 18 |
| Autres | 1 |

3. EVALUATION DE LA PERFORMANCE (RAPPORTS INDIVIDUELS)

La performance est évaluée sur la **justesse**.

Les valeurs assignées sont les valeurs consensuelles obtenues à partir des résultats de l'ensemble des laboratoires participants. Ces valeurs assignées sont obtenues par des méthodes d'estimation robustes afin d'éliminer l'influence de résultats aberrants. Certains résultats sont cependant exclus de l'analyse statistique. C'est le cas lorsque les laboratoires ne donnent pas de résultats pour l'ensemble des unités contaminées, lorsque les résultats sont du type "inférieur à x UFC/g", lorsque les échantillons sont analysés hors délai (délai de réception > 4 jours après l'envoi ou délai de mise en œuvre des analyses > 15 jours après l'envoi) ou lorsque cette information n'est pas précisée.

Une analyse statistique des résultats a également été effectuée afin de mettre en évidence d'éventuelles relations entre les techniques utilisées (délai de mise en œuvre des analyses, température de conservation, technique de préparation de la suspension mère, technique d'homogénéisation, conditions de revivification, méthode utilisée, milieux utilisés, fabricants des milieux, mode de préparation, tests de fertilité, de stérilité, vérification du pH, conditions d'incubation) et les résultats obtenus. Nous tenons bien à préciser que ce lien statistique n'implique pas une relation de cause à effet. En effet, ce lien peut être dû à un facteur non renseigné dans le questionnaire.

JUSTESSE

La justesse reflète la proximité de vos résultats à la valeur assignée de la contamination des échantillons.

Votre résultat, m , est comparée à la valeur assignée de la contamination, m^* , obtenue en appliquant l'algorithme A de la norme ISO 13528 à l'ensemble des résultats obtenus par les laboratoires retenus dans l'analyse statistique.

Un score z est ensuite calculé en appliquant la formule suivante : $z = \frac{m - m^*}{\sigma}$, où σ est l'écart-type pour l'évaluation de l'aptitude (estimation robuste de l'écart-type des résultats obtenus par les laboratoires).

La norme ISO 13528 précise que l'obtention d'un score z inférieur à -3 ou supérieur à +3 doit être considérée comme donnant un signe d'action et que l'obtention d'un score z inférieur à -2 ou supérieur à +2 doit être considérée comme donnant un signe de surveillance.

RAPPORTS INDIVIDUELS - POUR CHAQUE CRITERE VOUS TROUVEZ LES INFORMATIONS SUIVANTES

- votre résultat en logarithmes base 10 (-1 lorsque la réponse était < seuil et NaN lorsqu'il n'y avait pas de réponse).
- histogramme du paramètre étudié (résultats des laboratoires) avec une astérisque indiquant la position de votre résultat,
- le cas échéant, votre groupe par rapport à la technique utilisée,
- score z ,
- nombre de laboratoires ayant effectué l'analyse (et appartenant à votre groupe),
- nombre de laboratoires inclus dans l'analyse statistique,
- valeur assignée de la contamination et écart-type pour l'évaluation de l'aptitude,
- nombre de laboratoires obtenant un résultat "satisfaisant",
- nombre de laboratoires obtenant un signe de surveillance,
- nombre de laboratoires obtenant un signe d'action.

3.1. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

Valeur assignée de la contamination : 5.69 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.202 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.197 log ufc/g.

3.2. LISTERIA MONOCYTOGENES

Valeur assignée de la contamination : 5.81 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.786 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.075 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.780 log ufc/g.

3.3. ENTEROBACTERIES

Valeur assignée de la contamination : 5.17 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.584 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.245 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.072 log ufc/g.

3.4. COLIFORMES TOTAUX

Valeur assignée de la contamination : 5.23 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.508 log ufc/g.

Un effet significatif du milieu de culture a été mis en évidence. Les laboratoires utilisant le milieu Tempo TC obtiennent des résultats plus élevés que ceux utilisant les milieux Petrifilm ou VRBL.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

3.5. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

Valeur assignée de la contamination : 5.03 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.540 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

3.6. *ESCHERICHIA COLI*

Valeur assignée de la contamination : 4.78 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.311 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.072 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.297 log ufc/g.

3.7. *BACTERIES LACTIQUES*

Valeur assignée de la contamination : 4.82 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.246 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.078 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.226 log ufc/g.

3.8. *PSEUDOMONAS*

Valeur assignée de la contamination : 6.58 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.546 log ufc/g.

Aucun effet significatif de la technique de dénombrement n'a été mis en évidence.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.078 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.536 log ufc/g.

3.9. *BACILLUS CEREUS*

L'analyse statistique de cet essai n'a pas été réalisée car nous soupçonnons des défauts d'homogénéité de la matrice proposée.

A titre d'information, nous vous communiquons néanmoins les valeurs assignées pour l'évaluation de l'aptitude :

Valeur assignée de la contamination : 3.73 log ufc/g.
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.659 log ufc/g.