

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »



réseau d'analyses et d'échanges en microbiologie des aliments

CAMPAGNE N° 74 (7 MARS 2022) RAPPORT GENERAL

« Toute reproduction du présent rapport doit se faire dans son intégralité »
« L'utilisation du logo Cofrac ne peut se faire en dehors de ce rapport »

V. CARLIER⁽¹⁾, L. ALI-MANDJEE et M. CARLIER
ASA - ENVA, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 MAISONS ALFORT CEDEX

⁽¹⁾Coordonnateur de la comparaison interlaboratoires « RAEMA »

Pour toute réclamation, vous pouvez utiliser la fiche spécialement destinée à cet effet présente sur notre site <https://association.asa-spv.fr>

Table des matières

1- CONSIDERATIONS GENERALES	3
1-1 LABORATOIRES PARTICIPANTS	3
1-2 DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS	3
1-3 RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ECHANTILLON.....	3
1-3-1 NATURE	3
1-3-2 TAILLE.....	3
1-3-3 CONTROLE DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE DES ECHANTILLONS	3
1-3-4 FLORES A DENOMBRER ET A DETECTER	3
1-4 MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES	4
1-4-1 DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS	4
1-4-2 TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE	4
2- EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSE.....	4
2-1 PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE.....	4
2-2 DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE	4
2-3 TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES	4
2-4 CONDITIONS DE REVIVIFICATION	4
2-4-1 DUREE.....	4
2-4-2 TEMPERATURE.....	4
2-5 MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES.....	5
2-6 ENTEROBACTERIES	6
2-7 COLIFORMES TOTAUX	7
2-8 COLIFORMES THERMOTOLERANTS	8
2-9 ESCHERICHIA COLI.....	9
2-10 ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS	10
2-11 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS	11
2-12 STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE.....	12
2-13 LISTERIA MONOCYTOGENES – DENOMBREMENT.....	13
2-14 SALMONELLA –DETECTION.....	15
2-15 LISTERIA MONOCYTOGENES –DETECTION	17
3- EVALUATION DE LA PERFORMANCE.....	19
3-1 PERFORMANCES EN DENOMBREMENT	19
3-1-1 MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES.....	21
3-1-2 ENTEROBACTERIES	21
3-1-3 COLIFORMES TOTAUX	21
3-1-4 COLIFORMES THERMOTOLERANTS	22
3-1-5 ESCHERICHIA COLI.....	22
3-1-6 ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS	22
3-1-7 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS	23
3-1-8 STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE	23
3-1-9 LISTERIA MONOCYTOGENES – DENOMBREMENT	23
3-2 PERFORMANCES EN DETECTION	24
3-2-1 DETECTION – SALMONELLA	24
3-2-2 DETECTION - LISTERIA MONOCYTOGENES.....	24
3-3 EVOLUTION DE LA PERFORMANCE.....	24

1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

1.1. LABORATOIRES PARTICIPANTS

348 laboratoires ont participé à la 74^{ème} campagne. Cet envoi a été effectué le Lundi 7 mars 2022.
 342 réponses (98.3%) nous sont parvenues.

1.2. DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS

Réception	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+7	J0+8	J0+11
Nb laboratoires	7	214	70	20	14	1	9	5	1

1.3. RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ÉCHANTILLON

1.3.1. NATURE

L'échantillon contenait :

- une souche d'*Enterococcus sp.* à une concentration d'environ 10^5 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Citrobacter sp.* à une concentration d'environ 10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Serratia liquefaciens* à une concentration d'environ 10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 7.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ 10^2 ufc/g dans 2 unités ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ 5.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Salmonella Anatum* à une concentration d'environ 25 ufc/g dans 3 unités ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 3.10^3 ufc/g dans 3 unités.

1.3.2. TAILLE

180 kilogrammes de poudre ont été fabriqués, puis répartis après contamination en flacons contenant au minimum 75 grammes. Les pots étaient revêtus d'une étiquette portant un numéro d'identification à 6 chiffres.

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

L'homogénéité et la stabilité des échantillons sont contrôlées lors de l'analyse statistique des résultats obtenus par les laboratoires participants.

Un contrôle supplémentaire de l'homogénéité de la contamination a été réalisé sur 10 flacons pour chacune des 5 unités par dénombrement en double des micro-organismes aérobies mésophiles.

La stabilité de la contamination a également été contrôlée par dénombrement / détection de toutes les flores les 14, 21 et 28 mars 2022. Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant sous accréditation Cofrac.

L'homogénéité et la stabilité des échantillons sont validées.

1.3.4. FLORES A DENOMBRER OU A DETECTER

Il était proposé le dénombrement des flores suivantes : micro-organismes aérobies mésophiles, entérobactéries, coliformes totaux et thermotolérants, *Escherichia coli* beta-glucuronidase positive, anaérobies sulfito-réducteurs, *Clostridium perfringens*, staphylocoques à coagulase positive, *Listeria monocytogenes*, ainsi que la détection de *Salmonella* et de *Listeria monocytogenes*.

1.4. MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES

1.4.1. DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS

342 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+11	J0+14	J0+15	J0+18
Nb de laboratoires	34	57	37	5	1	128	52	8	4	2	9	4	1

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

339 laboratoires (99.1%) la précisent. La température moyenne est de **3.9°C** avec un écart-type de 0.9°C. Les valeurs 17, 20, 20.1, 22, 22.5, 24.1 et 25°C renseignées par 11 laboratoires n'ont pas été prises en compte dans ce calcul.

2. EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSES

2.1. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour **342** réponses (100%) :

217 laboratoires (63.4%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre.

124 laboratoires (36.3%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

1 laboratoire (0.3%) prépare la suspension mère d'une façon autre.

2.2. DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE

Pour **338** réponses (98.8%) :

301 laboratoires (88.0%) utilisent de l'eau peptonée tamponné (ou équivalent) pour la suspension mère.

35 laboratoires (10.2%) utilisent du tryptone sel pour la suspension mère.

2 laboratoires (0.6%) utilisent un diluant autre pour la suspension mère.

2.3. TECHNIQUES D'HOMOGENÉISATION UTILISÉES

Pour **339** réponses (99.1%) :

314 laboratoires (91.8%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.

18 laboratoires (5.2%) utilisent une homogénéisation manuelle.

3 laboratoires (0.9%) utilisent un agitateur type Vortex.

4 laboratoires (1.2%) utilisent une technique autre.

2.4. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

2.4.1. DUREE

330 laboratoires (96.5%) la précisent.

La durée moyenne est de **26.9 min** avec un écart-type de 15.2 min. Les valeurs 90, 120 et 1440 min renseignées par 4 laboratoires n'ont pas été prises en compte dans ce calcul.

2.4.2. TEMPERATURE

330 laboratoires (96.5%) la précisent.

La température moyenne est de **21.4°C** avec un écart-type de 3.4°C.

2.5. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

328 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
ISO/NF EN ISO 4833-1	211	
AFNOR 3M-01/1-09/89	52	
NM ISO 4833-1	22	
ISO/NF EN ISO 4833-2	11	
AFNOR BIO-12/35-05/13	9	
XP V08-034	8	
Méthode interne	6	
Autres	8	
+ V08-100 (spiral)	19	
Milieu		
Plate Count Agar	243	
Petrifilms	52	
Plate Count Agar + Lait	23	
Tempo AC	9	
Autres	1	
Préparation		
Sur place	112	
Prêt à l'emploi non pré-coulé	143	
Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	71	
Mode d'ensemencement		
En surface	67	
Dans la masse	246	
Milieu de culture pour carte	10	
1^{ère} dilution retenue		
- 1	11	
- 2	16	
- 3	175	
- 4	113	
- 5	3	
1/400	5	
1/4000	1	
Température d'incubation		
30°C	324	
33-35°C	2	
37°C	1	
25°C	1	
Durée d'incubation		
68-74 h	269	
40-48 h	56	
24-26 h	3	

2.6. ENTEROBACTÉRIES

288 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	NF V08-054	109
	→ NM 08.0.109 ⁽¹⁾	18
	ISO/NF EN ISO 21528-2	77
	AFNOR 3M-01/6-09/97	46
	AFNOR BIO-12/21-12/06	10
	AFNOR AES-10/07-01/08	9
	NM ISO 21528-2	8
	AFNOR BRD-07/24-11/13	7
	Méthode interne	2
	Autres	2
Milieu		
	VRBG	211
	Petrifilms	48
	Tempo EB	10
	Rebecca	10
	Rapid'Enterobacteriaceae	8
	Autres	1
Préparation		
	Sur place	93
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	137
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	57
1^{ère} dilution retenue		
	- 1	182
	- 2	95
	- 3	1
	1/40	2
	1/400	5
Température d'incubation		
	37 ± 1°C	183
	30°C	95
	35°C	10
Durée d'incubation		
	20-26 h	281
	48 h	5
	30 h	1
	37 h	1
Test de confirmation		
	Oui	69
	Non	215

⁽¹⁾ Méthode similaire à NF V08-054 selon l'Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires (ONSSA).

2.7. COLIFORMES TOTAUX

236 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	NF V08-050	119
	→ NM 08.0.142 ⁽²⁾	8
	ISO/NF ISO 4832	59
	NM ISO 4832	22
	AFNOR 3M	18
	AFNOR BRD-07/08-12/04	4
	AFNOR BIO-12/17-12/05	2
	Méthode interne	2
	Autres	2
Milieu		
	VRBL	207
	Petrifilms	19
	Rapid Ecoli	5
	Tempo TC	2
	Autres	2
Préparation		
	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	124
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	21
1^{ère} dilution retenue		
	-1	179
	-2	54
	-3	1
	1/400	1
Température d'incubation		
	30°C	220
	37°C	16
Durée d'incubation		
	20-26 h	232
	48 h	3
	30 h	1

Méthode AFNOR 3M dont :

3 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89 A.

⁽²⁾ Méthode similaire à NF V08-050 selon l'ONSSA.

2.8. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

217 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	NF V08-060	145
	→ NM 08.0.124 ⁽³⁾	27
	AFNOR 3M	23
	ISO/NF ISO 4832	18
	Méthode interne	2
	Autres	2
Milieu		
	VRBL	190
	Petrifilms	24
	Autres	3
Préparation		
	Sur place	87
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	106
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	23
1^{ère} dilution retenue		
	-1	173
	-2	43
Température d'incubation		
	42-45°C	214
	37°C	2
	30°C	1
Durée d'incubation		
	21-25 h	214
	48 h	3

Méthode AFNOR 3M dont :

4 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89 C.

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/05-03/97 B.

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm haute sensibilité.

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm EC.

⁽³⁾ Méthode similaire à NF V08-060 selon l'ONSSA.

2.9. ESCHERICHIA COLI

308 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	ISO/NF ISO 16649-2	182
	AFNOR 3M	47
	NM ISO 16649-2	18
	AFNOR BRD-07/01-07/93	17
	AFNOR BIO-12/13-02/05	10
	AFNOR AES-10/06-01/08	9
	NM 08.0.108	8
	AFNOR BIO-12/05-01/99	4
	ISO/NF EN ISO 16649-3	3
	Méthode interne	3
	Autres	7
Milieu		
	TBX	210
	Petrifilms	48
	Rapid E. coli	21
	Rebecca	11
	Tempo EC	10
	Coli ID	6
	Autres	2
Préparation		
	Sur place	89
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	163
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	56
Mode d'ensemencement		
	En surface (gélose, film)	46
	Dans la masse	246
	Milieu de culture pour carte	12
1^{ère} dilution retenue		
	-1	262
	-2	36
	1/40	2
	1/400	6
Température d'incubation		
	41-45°C	276
	37±1°C	31
	30°C	1
Durée d'incubation		
	18-25 h	304
	48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

16 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/08-06/01 (*SELECT'E. COLI*).

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/06-09/97.

2 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm EC.

2.10. ANAÉROBIES SULFITO-RÉDUCTEURS

244 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	NF V08-061	155
	→ NM 08.0.125 ⁽⁴⁾	15
	ISO/NF ISO 15213	47
	NM ISO 15213	14
	Méthode interne	7
	Autres	5
Milieu		
	TSC	230
	TSN	6
	Gélose sulfite de fer	6
	Autres	2
Préparation		
	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	125
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	29
Mode d'ensemencement		
	Boîtes	164
	Tubes	80
1^{ère} dilution retenue		
	-1	220
	-2	21
Température d'incubation		
	44-48°C	174
	37°C	70
Durée d'incubation		
	18-24 h	198
	44-48 h	40
	72 h	6

⁽⁴⁾ Méthode similaire à NF V08-061 selon l'ONSSA.

2.11. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

188 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	ISO/NF EN ISO 7937	149
	NM ISO 7937	29
	NM 08.0.111	2
	Méthode interne	1
	Autres	6
Milieu		
	TSC	187
	Autres	1
Préparation		
	Sur place	64
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	119
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	5
1^{ère} dilution retenue		
	-1	180
	-2	6
Température d'incubation		
	37°C	180
	44-46°C	7
	34°C	1
Durée d'incubation		
	18-24 h	181
	48 h	7
Test de confirmation		
	Aucun	29
	Lactose-sulfite	137
	Galeries	9
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	3
	Autres	1

2.12. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

303 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2	135
	ISO/NF EN ISO 6888-1	74
	AFNOR BKR-23/10-12/15	23
	NM ISO 6888-1	22
	AFNOR 3M-01/9-04/03	15
	AFNOR BIO-12/28-04/10	9
	NM ISO 6888-2	5
	Méthode interne	4
	NM 08.0.112	3
	NordVal No :049	3
Milieu	ISO/NF EN ISO 6888-3	3
	Autres	5
Préparation	RPF	131
	BP+jaune d'œuf tellurite	94
	Easy Staph	28
	Petrifilm	16
	BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine	16
	Tempo STA	9
	Rapid Staph	5
Mode d'ensemencement	Autres	2
	Sur place	69
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	129
1^{ère} dilution retenue	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	103
	En surface (gélose, film)	155
	Dans la masse	135
Température d'incubation	Milieu de culture pour carte	10
	37±1°C	298
	27-30°C	4
Durée d'incubation	44°C	1
	40-49 h	208
	18-25 h	95
Test de confirmation	Aucun	185
	Staphylo-coagulase libre	81
	Coagulase liée	16
	DNase	10
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	3
	Autres	2

2.13. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

249 laboratoires réalisent le dénombrement.

REVIVIFICATION

92 laboratoires déclarent réaliser une étape de revivification.

Les détails concernant la température et la durée de cette étape ne sont plus requis dans le questionnaire de saisie.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	ISO/NF EN ISO 11290-2	74
	AFNOR AES-10/05-09/06	59
	AFNOR BKR-23/05-12/07	53
	NM ISO 11290-2	26
	AFNOR BRD-07/05-09/01	25
	AFNOR BRD-07/17-01/09	10
	Autres	2
Diluant utilisé pour la suspension mère	Eau peptonée tamponnée ou équivalent	216
	Fraser 1/2	26
	Fraser base	3
	Autres	6
Milieu d'isolement	ALOA Count	116
	Compass Listeria	84
	Rapid Lmono	26
	AL Agar	18
	OCLA	3
	Palcam	1
	Autres	1
Préparation	Sur place	38
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	51
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	159
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	207
	Dans la masse	39

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1^{ère} dilution retenue	-1	158
	-2	88
Température d'incubation	37°C	243
	30°C	5
	20°C	1
Durée d'incubation	44-49 h	207
	24-27 h	41
	15 h	1
Test de confirmation	Aucun	47
	Biochimiques	148
	Biochimiques + CAMP	37
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	3
	Autres	10
Nb colonies testées	1	63
	2-4	14
	5	111
	6	2

2.14. SALMONELLA – DETECTION

312 laboratoires effectuent la recherche.

Les méthodes utilisées par les laboratoires sont précisées dans le tableau suivant :

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
ISO/NF EN ISO 6579-1		81
AFNOR BKR 23/07-10/11 (IRIS Salmonella)		77
NM ISO 6579-1		36
AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)		31
AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)		24
AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)		24
AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)		16
AFNOR BIO 12/01-04/94 (VIDAS SLM)		7
AFNOR UNI 03/07-11/13 (PCR)		3
AFNOR BRD 07/06-07/04 (PCR)		2
AFNOR BIO 12/38-06/16 (GENE UP Salmonella)		2
AFNOR TRA 02/08-03/01 (TRANSIA PLATE Salmonella GOLD)		2
Méthode interne		1
Autres		6

Vous trouverez, ci-dessous, un bref descriptif des méthodes proposées dans le questionnaire (hors ISO/NF EN ISO 6579-1, NM ISO 6579-1, autres) et pour lesquelles aucun détail n'a été demandé :

Méthode	Pré-enrichissement	Enrichissement	Isolation
AFNOR BKR 23/07-10/11 IRIS Salmonella		IRIS Salmonella Enrichissement / 41,5°C - 18±2h	IRIS / 37°C - 24±3h
AFNOR BRD 07/11-12/05 Rapid Salmonella		EPT + capsule Salmonella / 41,5°C - 18±2h	Rapid Salmonella / 37°C - 24±2h
AFNOR BIO 12/32-10/11 VIDAS SPT		EPT + Salmonella supplément / 41,5°C - 18/24h	Chrom ID / 37°C - 24h
AFNOR BIO 12/41-03/17 SALMA One day		EPT + Salmonella supplément / 41,5°C - 16/24h	SALMA / 37°C - 24±3h
AFNOR BIO 12/16-09/05 VIDAS Easy Salmonella	EPT / 37°C - 16/20h	SX2 / 41,5°C - 22/26h	Chrom ID / 37°C - 24h
AFNOR BIO 12/01-04/94 VIDAS SLM	EPT / 35°C - 24±2h	Tetrathionate (42°C - 6/8h) - Sélénite cystine (35-37°C - 6/8h) + M-Broth (42°C - 18h)	Vidas Heat & Go
AFNOR UNI 03/07-11/13 PCR		EPT + supplément / 34-38°C - 20/24h	Lyse + PCR
AFNOR BRD 07/06-07/04 PCR		EPT / 37°C - 18/21h	Lyse + PCR
AFNOR BIO 12/38-06/16 GENE UP Salmonella		EPT / 42°C - 18/24h	Lyse + PCR
AFNOR TRA 02/08-03/01 TRANSIA PLATE Salmonella GOLD	EPT / 37°C - 16/20h	RVS / 41,5°C - 18/24h	Test ELISA

Le détail de la méthodologie suivie par les 117 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 et NM ISO 6579-1, ainsi que les 7 laboratoires utilisant une méthode interne ou autre, est précisé dans le tableau ci-dessous :

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	ISO/NF EN ISO 6579-1	81
	NM ISO 6579-1	36
	Méthode interne	1
	Autres	6
Milieu pré-enrichissement		
	Aucun pré-enrichissement	2
	Eau peptonée tamponnée	118
	Autres	4
Température pré-enrichissement		
	37±1°C	115
	42-42.5°C	4
	22°C	2
	30°C	1
Durée pré-enrichissement		
	16-20 h	90
	22-24 h	32
Milieux enrichissement		
	Aucun enrichissement	5
	RVS	113
	MKT _{Tn}	108
	Bouillon sélénite-cystine	26
	Autres	3
Milieux isolement		
	XLD	107
	Hektoen	30
	Sulfite de Bismuth	25
	IRIS Salmonella agar	15
	ASAP	14
	GVB	12
	SS	10
	Brillance Salmonella	7
	Rapid Salmonella	5
	Compass Salmonella	5
	Rambach	2
	Autres	12
Test de confirmation		
	Biochimiques	46
	Biochimiques + agglutination	67
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	5
	Autres	4

2.15. LISTERIA MONOCYTOGENES – DETECTION

283 laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)		57
ISO/NF EN ISO 11290-1		57
AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)		57
NM ISO 11290-1		31
AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)		23
AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)		11
AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)		9
AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)		8
AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)		7
AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)		4
AFNOR BRD 07/10-04/05 (IQ Check Listeria)		4
AFNOR UNI 03/08-11/13 (PCR)		3
AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMO)		3
AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria Precis)		3
Méthode interne		2
Autres		4

Vous trouverez, ci-dessous, un bref descriptif des méthodes proposées dans le questionnaire (hors ISO/NF EN ISO 11290-1, NM ISO 11290-1, autres) et pour lesquelles aucun détail n'a été demandé :

Méthode	Enrichissement primaire		Enrichissement secondaire		Isolement
	Milieu	Incubation	Milieu	Incubation	
AFNOR AES 10/03-09/00 ALOA one day	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			ALOA One Day 37°C – 24/48h
AFNOR BKR 23/02-11/02 Compass L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Compass Listeria Agar 37°C – 24h
AFNOR BRD 07/04-09/98 Rapid' L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Rapid L'mono 37°C – 24h
AFNOR BRD 07/16-01/09 Agar Listeria	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Agar Listeria 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/11-03/04 VIDAS LMO2 (37°C)	Fraser 1/2	30°C - 24/26h	Fraser	37°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR BIO 12/27-02/10 VIDAS LMX	LMX	37°C - 26/30h			ChromID 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/02-06/94 VIDAS Listeria	Fraser 1/2	37°C - 26/30h	Fraser	30°C - 24/26h	Palcam et Oxford 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/18-03/06 VIDAS LDUO	LX	30°C - 24±2h	LX	30°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR BRD 07/10-04/05 IQ Check Listeria	Fraser ½ - LSB	30°C – 23/25h			Lyse + PCR
AFNOR UNI 03/08-11/13 PCR	LEB	37°C – 24/28h			Lyse + PCR
AFNOR BIO 12/40-11/16 GENE UP LMO	LPT	35 - 37°C - 24±2h			ALOA 35 - 37°C – 24/48h
AFNOR UNI 03/04-04/05 Listeria Precis	One Broth Listeria	30°C - 24±2h			Brilliance Listeria 37°C – 24h

Le détail de la méthodologie suivie par les 88 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 11290-1 et NM ISO 11290-1, ainsi que les 6 laboratoires utilisant une méthode interne ou autre, est précisé dans le tableau ci-dessous :

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode		
	ISO/NF EN ISO 11290-1	57
	NM ISO 11290-1	31
	Méthode interne	2
	Autres	4
Milieu enrichissement I		
	Aucun enrichissement I	0
	Fraser demi	86
	One broth Listeria	1
	Autres	7
Température enrichissement I		
	30°C	86
	37°C	6
	22°C	1
Durée enrichissement I		
	21-27 h	91
	28 h	1
	48 h	1
Milieu enrichissement II		
	Aucun enrichissement II	7
	Fraser	86
	Autres	1
Température enrichissement II		
	37°C	83
	30°C	2
	22°C	1
Durée enrichissement II		
	23-27 h	72
	48 h	14
Milieux isolement		
	Palcam	67
	Ottaviani et Agosti	52
	Compass Listeria	37
	Oxford	10
	Rapid L'mono	7
	Brilliance Listeria	1
	Autres	0
Température isolement		
	37°C	90
	30°C	2
Durée isolement		
	44-48 h	54
	22-24 h	38
Test de confirmation		
	Aucun	3
	Biochimiques	62
	Biochimiques + CAMP	22
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	3
	Autres	3
Test de confirmation		
Nb de colonies testées		
	1	36
	2-3	7
	5	41

3. EVALUATION DE LA PERFORMANCE (RAPPORTS INDIVIDUELS)

3.1. PERFORMANCES EN DENOMBREMENT

La performance est évaluée sur deux critères : **fidélité et justesse**.

La valeur assignée de la contamination pour évaluer la justesse et l'écart-type de fidélité de référence pour l'évaluation de la fidélité sont les valeurs consensuelles obtenues à partir des résultats de l'ensemble des laboratoires participants. Ces valeurs 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 (température de conservation, technique de préparation de la suspension mère, technique d'homogénéisation, conditions de revivification, milieux utilisés, fabricants des milieux, mode de préparation, mode d'ensemencement, 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.

Lorsqu'un lien statistique significatif a pu être mis en évidence entre l'utilisation d'une technique et les résultats obtenus, l'évaluation de la performance a été faite en prenant en compte l'"influence" du ou des facteurs en cause si leur effet se traduit par une différence de contamination supérieure à 0.15 log ufc/g pour les milieux non sélectifs ou supérieure à 0.30 log ufc/g pour les milieux sélectifs (ces limites correspondent aux limites de productivité des milieux de culture généralement préconisées dans la norme NF EN ISO 11133).

FIDELITE

La fidélité reflète la répétabilité (ou reproductibilité intra-laboratoire) de votre travail.

L'écart-type de vos résultats, s , est comparé à l'estimation robuste de l'écart-type (écart-type de fidélité de référence), s^* , obtenue en appliquant l'algorithme S de la norme ISO 13528 à l'ensemble des écarts-types obtenus par les laboratoires retenus dans l'analyse statistique.

Un indice est ensuite calculé en appliquant la formule suivante : $i = (k-1) \cdot \frac{s^2}{s^{*2}}$ (avec k , le nombre d'unités contaminées et retenues dans l'analyse statistique, 5 en général).

La norme ISO 13528 ne prévoyant pas de limites de surveillance et d'action pour ce paramètre, son interprétation est laissée à votre appréciation.

A titre indicatif, nous vous proposons les valeurs suivantes par analogie à celles indiquées pour l'appréciation de la justesse.

Pour $k=5$, un indice inférieur à 0.1 ou supérieur à 18 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.45 ou supérieur à 11.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.

Pour $k=4$, un indice inférieur à 0.03 ou supérieur à 15.5 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.2 ou supérieur à 9.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.

Pour $k=3$, un indice inférieur à 0.003 ou supérieur à 13.2 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.05 ou supérieur à 7.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.

Pour $k=2$, un indice inférieur à 0.000002 ou supérieur à 10.3 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.0008 ou supérieur à 5.2 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.

JUSTESSE

La justesse reflète la proximité de la moyenne de vos résultats à la valeur assignée de la contamination des échantillons. Celle-ci a été évaluée pour l'ensemble des flores à dénombrer.

La moyenne de vos résultats en log UFC/g, m (sur les unités contaminées et retenues dans l'analyse statistique), est comparée à la valeur assignée de la contamination, m_{pt} , obtenue en appliquant l'algorithme A de la norme ISO 13528 à l'ensemble des moyennes obtenues par les laboratoires retenus dans l'analyse statistique. Lorsque des groupes sont constitués, chacun est caractérisé par une valeur assignée propre.

Un score z est ensuite calculé en appliquant la formule suivante : $z = \frac{m - m_{pt}}{\sigma_{pt}}$, où σ_{pt} est l'écart-type

pour l'évaluation de l'aptitude (estimation robuste de l'écart-type des moyennes obtenues par les laboratoires).

Les valeurs des scores z vous sont proposées avec 3 chiffres significatifs.

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 d'avertissement.

Nous précisons dans ce rapport, les estimations des écarts-types interlaboratoires pour les dénombrements proposés ainsi que les écarts-types de reproductibilité ou écarts-types globaux des essais (paramètres intégrant la variabilité interlaboratoires et la variabilité de fidélité).

RAPPORTS INDIVIDUELS - POUR CHAQUE CRITERE VOUS TROUVEZ LES INFORMATIONS SUIVANTES

- vos résultats en logarithmes base 10 (-1 lorsque la réponse était < seuil et NaN lorsqu'il n'y avait pas de réponse). Remarque : l'ordre de présentation de vos résultats ne correspond pas forcément à l'ordre dans lequel vous les avez rendus, cet ordre de présentation reste cependant inchangé d'une flore à l'autre.
- histogramme du paramètre étudié (écart-types des laboratoires pour la fidélité et moyennes des laboratoires pour la justesse) avec un astérisque indiquant la position de votre résultat,
- écart-type (fidélité) ou moyenne (justesse) de vos résultats (sur les unités contaminées et retenues dans l'analyse statistique),
- la méthode déclarée dans votre saisie de résultats,
- le cas échéant, votre groupe par rapport à la technique utilisée,
- indice de fidélité ou score z ,
- nombre de laboratoires ayant effectué l'analyse (et appartenant à votre groupe),
- nombre de laboratoires inclus dans l'analyse statistique,
- écart-type de fidélité de référence (fidélité) ou valeur assignée de la contamination et écart-type pour l'évaluation de l'aptitude (justesse),
- nombre de laboratoires obtenant un résultat "satisfaisant",
- nombre de laboratoires obtenant un signe d'avertissement,
- nombre de laboratoires obtenant un signe d'action.

3.1.1. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

Aucun "effet" significatif de la technique d'analyse n'a été mis en évidence.

Micro-organismes aérobies mésophiles	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	5.469
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0060
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0843
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0530
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.0809
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.0967

3.1.2. ENTEROBACTERIES

Un "effet" significatif du milieu de culture, du fabricant et de la dilution retenue a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination supérieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en trois groupes :

Entérobactéries	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.003	3.241	3.429
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0186	0.0364	0.0229
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1948	0.2039	0.1307
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)		0.0856	
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1910	0.2002	0.1249
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2093	0.2178	0.1514

3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

Un "effet" significatif du milieu de culture, du fabricant et de la dilution retenue a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination supérieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en trois groupes :

Coliformes totaux	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.915	3.078	3.366
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0211	0.0334	0.0410
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1999	0.1907	0.1672
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)		0.0775	
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1969	0.1875	0.1636
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2147	0.2061	0.1846

3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

Un “effet” significatif de la dilution retenue a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination supérieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en deux groupes :

Coliformes thermotolérants	Groupe 1	Groupe 2
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.922	3.288
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0177	0.0369
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1782	0.1890
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0884	
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1737	0.1848
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1937	0.2037

3.1.5. *ESCHERICHIA COLI*

Un “effet” significatif du mode de préparation du milieu de culture et de la dilution retenue a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe :

<i>Escherichia coli</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.899
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0150
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2046
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0877
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2008
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2192

3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

Seules les unités n°3 et 4 étaient artificiellement contaminées.

Aucun “effet” significatif de la technique d'analyse n'a été mis en évidence.

Anaérobies Sulfito-réducteurs	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.112
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0171
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2022
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1078
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1873
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2161

Remarques :

- 5 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 10 à 3800 ufc/g.
- 8 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 1 à 4300 ufc/g.
- 13 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 10 à 5200 ufc/g.

3.1.7. *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

Seules les unités n°3 et 4 étaient artificiellement contaminées.

Aucun "effet" significatif de la technique d'analyse n'a été mis en évidence.

<i>Clostridium perfringens</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.105
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0158
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1660
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0995
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1504
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1803

Remarques :

- 3 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 10 à 2400 ufc/g.
- 5 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 10 à 4400 ufc/g .
- 5 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 10 à 4000 ufc/g .

3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Un "effet" significatif de la durée de revivification a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe :

Staphylocoques à coagulase positive	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.836
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0124
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1669
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0657
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1643
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1769

3.1.9. *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Seules les unités n°3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

Un "effet" significatif du milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe :

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.514
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0083
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1019
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0724
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.0929
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1178

3.2. PERFORMANCES EN DETECTION

La performance est évaluée par la capacité à détecter uniquement les échantillons contaminés par *Salmonella* et *Listeria monocytogenes* (absence de résultats faussement positifs ou négatifs).

3.2.1. DETECTION – *SALMONELLA*

Seules les unités n°3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

297 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

8 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 5 et 5 faux-positifs pour les unités n°1 et 2).

13 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 4, 3 et 8 faux-négatifs pour les unités n°3, 4 et 5).

3.2.2. DETECTION – *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Seules les unités n°3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

274 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

6 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 2 et 4 faux-positifs pour les unités n°1 et 2).

4 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 1, 0 et 3 faux-négatifs pour les unités n°3, 4 et 5).

3.3. EVOLUTION DE LA PERFORMANCE

Vous trouverez, sur chaque page d'évaluation de votre performance, un graphique présentant son évolution sur les différents essais depuis la 54^{ème} campagne.

Afin d'interpréter votre carte de contrôle des scores z, vous pouvez vous référer à la norme ISO 13528 §10.8.2.2 détaillant les 3 situations « hors de contrôle » :

- 1 score z en dehors des limites d'action ($z < -3$ ou $z > 3$),
- 2 scores z sur 3 consécutifs en dehors des limites d'avertissement ($-3 < z < -2$ ou $2 < z < 3$),
- 6 scores z consécutifs augmentant ou diminuant régulièrement.