

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »



CAMPAGNE RAEMA POUDRE N° 78 (12 MARS 2024) 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 »

« Le rapport général est public, accessible à partir du site Internet de l'ASA, les résultats et informations sont anonymes, ils ne contiennent aucune information confidentielle »

Rapport autorisé par M. CARLIER⁽¹⁾, L. ALI-MANDJEE et E. RIOUALL
ASA (Adresse postale) – 149 rue de Bercy, 75012 PARIS

⁽¹⁾Coordonnateur de la comparaison interlaboratoires « RAEMA »

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 TAILLE DE LA PRISE D'ESSAI	4
2-2 PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE	4
2-3 DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE	4
2-4 TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES	4
2-5 CONDITIONS DE REVIVIFICATION	4
2-5-1 DUREE	4
2-5-2 TEMPERATURE	4
2-6 MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES	5
2-7 ENTEROBACTERIES	6
2-8 COLIFORMES TOTAUX	7
2-9 COLIFORMES THERMOTOLERANTS	8
2-10 ESCHERICHIA COLI	9
2-11 ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS	10
2-12 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS	11
2-13 STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE	12
2-14 LISTERIA MONOCYTOGENES – DENOMBREMENT	13
2-15 SALMONELLA –DETECTION	15
2-16 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

338 laboratoires ont participé à la 78^{ème} campagne. Cet envoi a été effectué le mardi 12 mars 2024.
335 réponses (99.1%) nous sont parvenues.

1.2. DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS

Réception	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+14
Nb laboratoires	22	219	42	23	13	9	2	3	1	1

1.3. RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ÉCHANTILLON

1.3.1. NATURE

L'échantillon contenait :

- une souche d'*Enterococcus sp.* à une concentration d'environ 2.10^5 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Citrobacter sp.* à une concentration d'environ 5.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Serratia liquefaciens* à une concentration d'environ 4.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 3.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ 1.10^3 ufc/g dans 4 unités ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ 6.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Salmonella* Anatum à une concentration d'environ 500 ufc/g dans 2 unités ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 5.10^3 ufc/g dans 2 unités.

Les échantillons ont été préparés entre janvier et mars 2024. La maintenance des souches bactériennes et le contrôle de leur contamination sont confiés à un sous-traitant.

1.3.2. TAILLE

180 kilogrammes de poudre de lait 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 18, 25 mars et 2 avril 2024. Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant sous accréditation Cofrac.

L'homogénéité est validée, à l'exception des paramètres « Entérobactéries » et « Coliformes thermotolérants ». Pour ces deux paramètres, l'homogénéité entre les unités n'est pas validée, aussi les unités 1 et 3 ne sont pas retenues dans l'analyse statistique. Seules les unités 2, 4 et 5 sont prises en compte pour l'évaluation de la justesse et de la fidélité.

La stabilité des échantillons est validée, à l'exception du paramètre « Coliformes thermotolérants » en 3^{ème} semaine d'analyse. Seuls les laboratoires ayant analysé ce paramètre à partir de J13 sont concernés et en sont avertis.

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

335 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+11	J0+12	J0+13	J0+14	J0+15	J0+16	J0+21
Nb de laboratoires	2	42	36	11	2	1	151	56	11	8	1	1	6	3	2	1	1

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

334 laboratoires (99.7%) la précisent. La température moyenne est de **3.9°C** avec un écart-type de 0.9°C. Les valeurs -4, 20, 22 et 25°C renseignées par 6 laboratoires n'ont pas été prises en compte dans ce calcul.

2. EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSES

2.1. TAILLE DE LA PRISE D'ESSAI

331 laboratoires la précisent (98.8%).

La taille moyenne est de **18.1 g** avec un écart-type de 8.0 g. La taille minimale renseignée est 1 g et la taille maximale 50 g.

2.2. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour 333 réponses (99.4%) :

208 laboratoires (62.1%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre.

120 laboratoires (35.8%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

5 laboratoires (1.5%) préparent la suspension mère d'une façon autre.

2.3. DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE

Pour 330 réponses (98.5%) :

291 laboratoires (86.9%) utilisent de l'eau peptonée tamponnée (ou équivalent) pour la suspension mère.

35 laboratoires (10.5%) utilisent du tryptone sel pour la suspension mère.

4 laboratoires (1.1%) utilisent un diluant autre pour la suspension mère.

2.4. TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES

Pour 332 réponses (99.1%) :

306 laboratoires (91.3%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.

18 laboratoires (5.4%) utilisent une homogénéisation manuelle.

5 laboratoires (1.5%) utilisent un agitateur type Vortex.

3 laboratoires (0.9%) utilisent une technique autre.

2.5. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

2.5.1. DUREE

319 laboratoires (95.2%) la précisent.

La durée moyenne est de **27.0 min** avec un écart-type de 15.9 min. La valeur 1440 min renseignée par 1 laboratoire n'a pas été prise en compte dans ce calcul.

2.5.2. TEMPERATURE

319 laboratoires (95.2%) la précisent.

La température moyenne est de **21.5°C** avec un écart-type de 3.3°C.

2.6. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

318 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 4833-1	205
	AFNOR 3M-01/1-09/89	44
	NM ISO 4833-1	27
	ISO/NF EN ISO 4833-2	12
	AFNOR BIO-12/35-05/13	11
	Méthode interne	6
	XP V08-034	6
	Autres	7
	+ Méthode spirale	16
Milieu	Plate Count Agar	244
	Petrifilms	45
	Plate Count Agar + Lait	17
	Tempo AC	11
	Autres	1
Préparation	Sur place	107
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	141
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	70
Mode d'ensemencement	En surface	64
	Dans la masse	235
	Milieu de culture pour carte	11
1^{ère} dilution retenue	- 1	12
	- 2	13
	- 3	239
	- 4	44
	1/400	7
	1/4000	2
Température d'incubation	30°C	316
	33°C	1
	37°C	1
Durée d'incubation	69-75 h	272
	40-48 h	44
	24-26 h	2

2.7. ENTEROBACTÉRIES

284 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-054	103
	→ NM 08.0.109 ⁽¹⁾	17
	ISO/NF EN ISO 21528-2	78
	AFNOR 3M-01/6-09/97	46
	NM ISO 21528-2	13
	AFNOR AES-10/07-01/08	8
	AFNOR BRD-07/24-11/13	8
	AFNOR BIO-12/21-12/06	8
	Méthode interne	2
	Autres	1
Milieu	VRBG	210
	Petrifilms	48
	Rebecca	9
	Rapid'Enterobacteriaceae	8
	Tempo EB	8
	Autres	1
Préparation	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	134
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	60
1^{ère} dilution retenue	- 1	228
	- 2	48
	1/40	2
	1/400	5
Température d'incubation	37°C	185
	30°C	89
	35°C	9
Durée d'incubation	22-25 h	278
	48 h	5
Test de confirmation	Oui	77
	Non	196

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

2.8. COLIFORMES TOTAUX

221 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-050	106
	→ NM 08.0.142 ⁽²⁾	7
	ISO/NF ISO 4832	60
	NM ISO 4832	24
	AFNOR 3M	11
	AFNOR BIO-12/17-12/05	4
	AFNOR BRD-07/08-12/04	4
	Autres	5
Milieu	VRBL	197
	Petrifilms	12
	Rapid Ecoli	5
	Tempo TC	4
	Autres	3
Préparation	Sur place	82
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	122
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	17
1^{ère} dilution retenue	-1	206
	-2	11
	1/400	3
Température d'incubation	30°C	207
	37°C	12
	24°C	1
Durée d'incubation	21-24 h	216
	48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

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

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

2.9. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

197 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-060	137
	→ NM 08.0.124 ⁽³⁾	29
	AFNOR 3M	16
	ISO/NF ISO 4832	12
	Autres	3
Milieu	VRBL	177
	Petrifilms	16
	Autres	4
Préparation	Sur place	78
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	104
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	15
1^{ère} dilution retenue	-1	187
	-2	9
Température d'incubation	42-44.5°C	192
	37°C	3
	30°C	2
Durée d'incubation	22-24 h	193
	44-48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

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

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

2.10. ESCHERICHIA COLI

296 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 16649-2	175
	AFNOR 3M	43
	NM ISO 16649-2	27
	AFNOR BRD-07/01-07/93	15
	AFNOR BIO-12/13-02/05	11
	AFNOR AES-10/06-01/08	6
	NM 08.0.108	4
	ISO/NF EN ISO 16649-3	4
	AFNOR BIO-12/05-01/99	3
	Méthode interne	3
	Autres	5
Milieu	TBX	208
	Petrifilms	44
	Rapid E. coli	18
	Tempo EC	11
	Rebecca	8
	Coli ID	5
	Autres	1
Préparation	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	151
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	53
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	44
	Dans la masse	235
	Milieu de culture pour carte	13
1^{ère} dilution retenue	-1	276
	-2	10
	1/40	3
	1/400	6
Température d'incubation	40-46°C	268
	37°C	26
	30°C	1
Durée d'incubation	18-25 h	291
	48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

14 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-Petrifilm EC.

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/01-09/89.

2.11. ANAÉROBES SULFITO-RÉDUCTEURS

237 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-061	153
	→ NM 08.0.125 ⁽⁴⁾	16
	ISO/NF ISO 15213-1	41
	NM ISO 15213	16
	Méthode interne	5
	Autres	5
Milieu	TSC	211
	Gélose sulfite de fer	18
	TSN	6
	Autres	2
Préparation	Sur place	83
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	132
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	22
Mode d'ensemencement	Boîtes	168
	Tubes	68
1^{ère} dilution retenue	-1	130
	-2	100
	-3	6
Température d'incubation	44-46°C	169
	37°C	66
	30°C	1
Durée d'incubation	16-24 h	188
	48 ±1h	44
	72 h	4

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

2.12. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

197 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 7937	125
	ISO/NF ISO 15213-2	31
	NM ISO 7937	29
	NM 08.0.111	3
	Méthode interne	1
	Autres	8
Milieu	TSC	197
Préparation	Sur place	63
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	130
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	4
1^{ère} dilution retenue	-1	130
	-2	67
Température d'incubation	36.5-37°C	192
	44-46°C	5
Durée d'incubation	17-24 h	193
	48 h	4
Test de confirmation	Aucun	36
	Lactose-sulfite	128
	Galleries	9
	Gélose SIM	7
	Phosphatase acide	4
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Autres	3

La norme ISO/NF ISO 15213-2 est parue en novembre 2023, elle amende la norme ISO/NF EN ISO 7937. Dans cette nouvelle norme, les méthodes de confirmation sont revues et les critères / caractéristiques de performance des milieux sont notamment ajoutés.

2.13. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

291 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2/A1	127
	ISO/NF EN ISO 6888-1/A1	74
	AFNOR BKR-23/10-12/15	27
	NM ISO 6888-1	24
	AFNOR 3M-01/9-04/03	13
	AFNOR BIO-12/28-04/10	8
	NM ISO 6888-2	3
	NM 08.0.112	3
	ISO/NF EN ISO 6888-3	2
	NordVal No :049	2
	Méthode interne	1
	Autres	7
Milieu	RPF	129
	BP+jaune d'œuf tellurite	92
	Easy Staph	29
	Petrifilm	13
	BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine	13
	Tempo STA	8
	Rapid Staph	2
	Autres	5
Préparation	Sur place	76
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	124
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	91
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	150
	Dans la masse	130
	Milieu de culture pour carte	8
1^{ère} dilution retenue	-1	109
	-2	172
	-3	2
	1/40	4
	1/400	3
Température d'incubation	35-37°C	289
	30°C	1
Durée d'incubation	42-49 h	207
	20-25 h	82
	32 h	1
Test de confirmation	Aucun	181
	Staphylo-coagulase libre	78
	Coagulase liée	19
	DNase	7
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Autres	1

2.14. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

243 laboratoires réalisent le dénombrement.

REVIVIFICATION

73 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	AFNOR AES-10/05-09/06	63
	ISO/NF EN ISO 11290-2	62
	AFNOR BKR-23/05-12/07	57
	NM ISO 11290-2	27
	AFNOR BRD-07/05-09/01	25
	AFNOR BRD-07/17-01/09	8
	Autres	1
Diluant utilisé pour la suspension mère	Eau peptonée tamponnée ou équivalent	204
	Fraser 1/2	32
	Fraser base	4
Milieu d'isolement	ALOA Count	114
	Compass Listeria	88
	Rapid Lmono	25
	AL Agar	11
	OCLA	3
	Palcam	2
Préparation	Sur place	41
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	49
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	152
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	200
	Dans la masse	39

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1^{ère} dilution retenue	-1	133
	-2	107
	-3	1
	1/2	1
Température d'incubation	37±1°C	241
	30°C	2
Durée d'incubation	42-48.5 h	200
	21-24 h	43
Test de confirmation	Aucun	47
	Biochimiques	144
	Biochimiques + CAMP	33
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	6
	Autres	3
Nb colonies testées	1	58
	2-3	14
	5	106
	10	1
	120	1
	150	1

2.15. SALMONELLA – DETECTION

305 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)	73
	NM ISO 6579-1	39
	AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)	36
	AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)	21
	AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)	18
	AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)	11
	AFNOR BIO 12/01-04/94 (VIDAS SLM)	8
	AFNOR UNI 03/06-12/07 (Salmonella precis)	4
	AFNOR UNI 03/07-11/13 (PCR)	3
	AFNOR BIO 12/38-06/16 (GENE UP Salmonella)	3
	AFNOR BRD 07/06-07/04 (PCR)	2
	AFNOR TRA 02/08-03/01 (TRANSIA PLATE Salmonella GOLD)	1
	Autres	5

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	Isolement
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 UNI 03/06-12/07 Salmonella precis		ONE broth-Salmonella / 42°C - 16/24h	Brilliance Salmonella / 37°C - 24±2h
AFNOR BIO 12/38-06/16 GENE UP Salmonella		EPT / 42°C - 18/24h	Lyse + PCR
AFNOR BRD 07/06-07/04 PCR		EPT / 37°C - 18/21h	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
AFNOR QUA 18/03-11/02 BAX SYSTEM PCR		EPT / 37°C - 16/20h	Lyse + PCR

Le détail de la méthodologie suivie par les 120 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 et NM ISO 6579-1, ainsi que les 5 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	39
	Autres	5
Milieu pré-enrichissement	Aucun pré-enrichissement	1
	Eau peptonée tamponnée	121
	Autres	2
Température pré-enrichissement	37±1°C	119
	41.5-42°C	3
	22°C	1
Durée pré-enrichissement	16-20 h	88
	21-24 h	35
Milieus enrichissement	Aucun enrichissement	2
	RVS	116
	MKTTn	116
	Bouillon sélénite-cystine	28
	Autres	4
Milieus isolement	XLD	114
	Hektoen	34
	Sulfite de Bismuth	28
	IRIS Salmonella agar	16
	GVB	15
	ASAP	13
	SS	13
	Compass Salmonella	6
	Rapid Salmonella	5
	Rambach	1
	Brilliance Salmonella	1
	Autres	11
Test de confirmation	Biochimiques	52
	Biochimiques + agglutination	62
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	6
	Autres	2

2.16. LISTERIA MONOCYTOGENES – DETECTION

281 laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)	63
	ISO/NF EN ISO 11290-1	57
	AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)	57
	NM ISO 11290-1	29
	AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)	24
	AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)	8
	AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)	7
	AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)	7
	AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)	5
	AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)	5
	AFNOR BRD 07/10-04/05 (IQ Check Listeria)	5
	AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMO)	4
	AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria Precis)	4
	AFNOR UNI 03/08-11/13 (PCR)	2
	Méthode interne	1
	Autres	3

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 BKR 23/02-11/02 Compass L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Compass Listeria Agar 37°C – 24h
AFNOR AES 10/03-09/00 ALOA one day	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			ALOA One Day 37°C – 24/48h
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 12/40-11/16 GENE UP LMO	LPT	35 - 37°C - 24±2h			ALOA 35 - 37°C – 24/48h
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 UNI 03/08-11/13 PCR	LEB	37°C – 24/28h			Lyse + PCR
AFNOR UNI 03/04-04/05 Listeria Precis	One Broth Listeria	30°C - 24±2h			Brilliance Listeria 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

Le détail de la méthodologie suivie par les 86 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 11290-1 et NM ISO 11290-1, ainsi que les 4 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	29
	Méthode interne	1
	Autres	3
Milieu enrichissement I	Aucun enrichissement I	1
	Fraser demi	86
	One broth Listeria	1
	Autres	2
Température enrichissement I	30°C	83
	37°C	6
	23°C	1
Durée enrichissement I	18-28 h	88
	48 h	2
Milieu enrichissement II	Aucun enrichissement II	6
	Fraser	83
	Autres	1
Température enrichissement II	37±1°C	81
	30°C	3
Durée enrichissement II	22-24 h	71
	48 h	14
Milieus isolement	Palcam	64
	Ottaviani et Agosti	48
	Compass Listeria	37
	Oxford	15
	Rapid L'mono	3
	Brilliance Listeria	1
Température isolement	37±1°C	88
	30°C	1
Durée isolement	48±1 h	62
	23-24 h	27
Test de confirmation	Aucun	3
	Biochimiques	60
	Biochimiques + CAMP	20
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	5
Test de confirmation	1	22
Nb de colonies testées	2-4	10
	5	44

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 permet d'évaluer la justesse, l'écart-type de fidélité de référence permet l'évaluation de la fidélité ; ce sont des 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 et d'homogénéisation, conditions de revivification, milieux utilisés, fabricants des milieux, mode de préparation, mode d'ensemencement, conditions d'incubation, dilution retenue) 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 NF 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 NF 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 NF 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.

L'incertitude de la valeur assignée est calculée selon la formule suivante :

$$u(X_{pt}) = 1,25 \times \frac{\sigma_{pt}}{\sqrt{p}}$$

avec σ_{pt} , écart-type robuste des résultats (écart-type pour l'évaluation de l'aptitude) et p , nombre de laboratoires.

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 NF ISO 13528 précise que par convention un score z tel que :

- $|z| \leq 2,0$ est considéré comme satisfaisant (acceptable) ;
- $2,0 < |z| < 3,0$ est considéré comme générant un signal d'avertissement ;
- $|z| \geq 3,0$ est considéré comme générant un signal d'action (ou inacceptable).

Nous précisons dans ce rapport, les estimations des écarts-types inter-laboratoires pour les dénombrements proposés ainsi que les écarts-types de reproductibilité ou écarts-types globaux des essais (paramètres intégrant la variabilité inter-laboratoires 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)	5.376
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0052
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0699
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0496
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0663
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.0828

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 deux groupes :

Entérobactéries	Groupe 1	Groupe 2
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.671	3.018
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0176	0.0262
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2060	0.1391
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1019	
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1975	0.1260
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2222	0.1620

Remarque : Compte tenu du problème d'homogénéité rencontré entre les unités contaminées, les unités 1 et 3 n'ont pas été retenues dans l'analyse statistique.

Unité 1 : Valeur assignée de la contamination (log ufc/g) = 2.808
 Ecart-type pour l'évaluation d'aptitude (log ufc/g) = 0.2358
 Unité 3 : Valeur assignée de la contamination (log ufc/g) = 2.801
 Ecart-type pour l'évaluation d'aptitude (log ufc/g) = 0.2291

3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

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

Coliformes totaux	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.622
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0175
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1973
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1033
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1919
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2179

3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

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

Coliformes thermotolérants	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.584
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0173
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1841
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1054
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1738
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2014

Remarque : Compte tenu du problème d'homogénéité rencontré entre les unités contaminées, les unités 1 et 3 n'ont pas été retenues dans l'analyse statistique.

Unité 1 : Valeur assignée de la contamination (log ufc/g) = 2.670
 Ecart-type pour l'évaluation d'aptitude (log ufc/g) = 0.1924
 Unité 3 : Valeur assignée de la contamination (log ufc/g) = 2.651
 Ecart-type pour l'évaluation d'aptitude (log ufc/g) = 0.1885

3.1.5. *ESCHERICHIA COLI*

Un "effet" significatif du milieu de culture, du fabricant et du mode de préparation 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>Escherichia coli</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.523
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0130
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1699
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1014
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1638
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1926

3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

Seules les unités n°1, 3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

Un "effet" significatif de la prise d'essai, du mode de préparation de la suspension mère 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 :

Anaérobies Sulfito-réducteurs	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.032
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0172
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2008
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0856
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1961
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2140

Remarque :

- 11 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 270 à 25000 ufc/g.

3.1.7. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Seules les unités n°1, 3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

Un "effet" significatif 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>Clostridium perfringens</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.011
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0186
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1980
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0899
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1928
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2128

Remarque :

- 5 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 54 à 2000 ufc/g.

3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Un "effet" significatif de la prise d'essai 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)	3.811
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0097
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1271
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0594
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1243
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1377

3.1.9. LISTERIA MONOCYTOGENES

Seules les unités n°1 et 3 étaient artificiellement contaminées.

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

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.771
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0081
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0976
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0622
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0872
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1071

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°1 et 3 étaient artificiellement contaminées.

296 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

8 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 1, 7 et 1 faux-positif pour les unités n°2, 4 et 5).

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

3.2.2. DETECTION – LISTERIA MONOCYTOGENES

Seules les unités n°1 et 3 étaient artificiellement contaminées.

279 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

2 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 1 et 1 faux-positif pour les unités n°4 et 5).

1 laboratoire a obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 1 faux-négatifs pour l'unité n°3).

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 58^{ème} campagne.

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

- 1 score z en dehors des limites d'action ($z \leq -3,0$ ou $z \geq 3,0$),
- 2 scores z sur 3 consécutifs en dehors des limites d'avertissement ($2,0 < z$ ou $z < -2,0$),
- 6 scores z consécutifs soit positifs soit négatifs.