

## COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »

**CAMPAGNE N° 48**  
**(3 MARS 2009)**

### RAPPORT GENERAL



ACCREDITATION  
N°1-1836  
PORTEE  
DISPONIBLE SUR  
[WWW.COFRAC.FR](http://WWW.COFRAC.FR)

**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

**436 laboratoires** ont participé à la 48<sup>ème</sup> campagne dont un groupe de 49 laboratoires Belges. Cet envoi a été effectué le Mardi 3 mars 2009.

**426** réponses (97.7%) nous sont parvenues.

### 1.2. DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS

Réception	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+14	J0+15
Nb de laboratoires	14	226	81	44	6	1	23	13	7	2	1	1	1

2 laboratoires déclarent avoir reçu les échantillons respectivement 5 et 7 jours avant leur envoi.

### 1.3. RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ECHANTILLON

#### 1.3.1. NATURE

L'échantillon contenait :

- une souche d'*Enterococcus sp.* à une concentration d'environ  $7.10^4$  ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Citrobacter sp.* à une concentration d'environ  $10^2$  ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ  $10^2$  ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ  $10^3$  ufc/g dans 4 unités ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ  $4.10^3$  ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Salmonella* Anatum à une concentration d'environ  $10^2$  ufc/g dans 2 unités ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ  $4.10^3$  ufc/g dans 3 unités.

#### 1.3.2. TAILLE

200 kilogrammes de poudre ont été fabriqués, puis répartis après contamination en flacons d'environ 80 grammes. Les pots étaient revêtus d'une étiquette portant un numéro d'identification à 6 chiffres.

48<sup>ème</sup> campagne (édition 15/04/09)

1/19

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

L'homogénéité et la stabilité des échantillons est contrôlée 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 / recherche de toutes les flores les 9, 16 et 23 mars 2009. Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant sous accréditation Cofrac.

### 1.3.4. FLORES A DENOMBRER OU A RECHERCHER

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

## 1.4. MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES

### 1.4.1. DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS

426 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0	J0+													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	14	15
Nb de laboratoires	3	23	28	10	7	1	186	99	21	16	5	1	18	7	1

### 1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

422 laboratoires (99.1%) la précisent. La température moyenne est de **4.4°C** avec un écart-type de 4.0°C.

## 2. EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSES

### 2.1. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour 426 réponses (100%) :

246 laboratoires (57.7%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

179 laboratoires (42.3%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre.

### 2.2. TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES

Pour 426 réponses (100%) :

393 laboratoires (92.3%) homogénéisent leur prélèvement avec un Stomacher<sup>ND</sup>.

33 laboratoires (7.7%) utilisent une autre technique (manuelle, magnétique ou autre).

### 2.3. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

#### 2.3.1. DUREE

420 laboratoires (98.6%) la précisent.

La durée moyenne est de **26.3 min** avec un écart-type de 20.9 min.

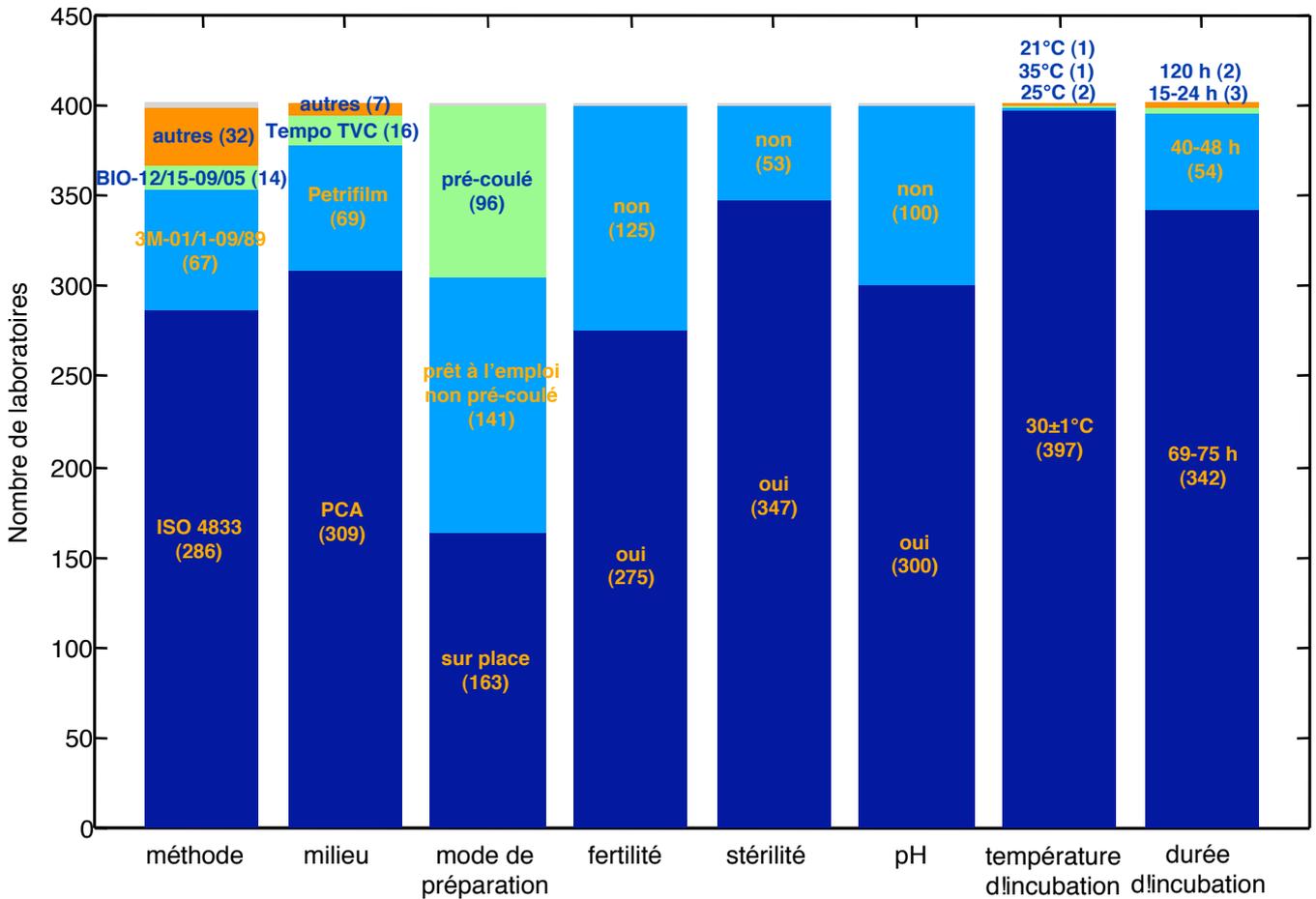
#### 2.3.2. TEMPERATURE

418 laboratoires (98.1%) la précisent.

La température moyenne est de **20.9°C** avec un écart-type de 2.6°C.

## 2.4. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

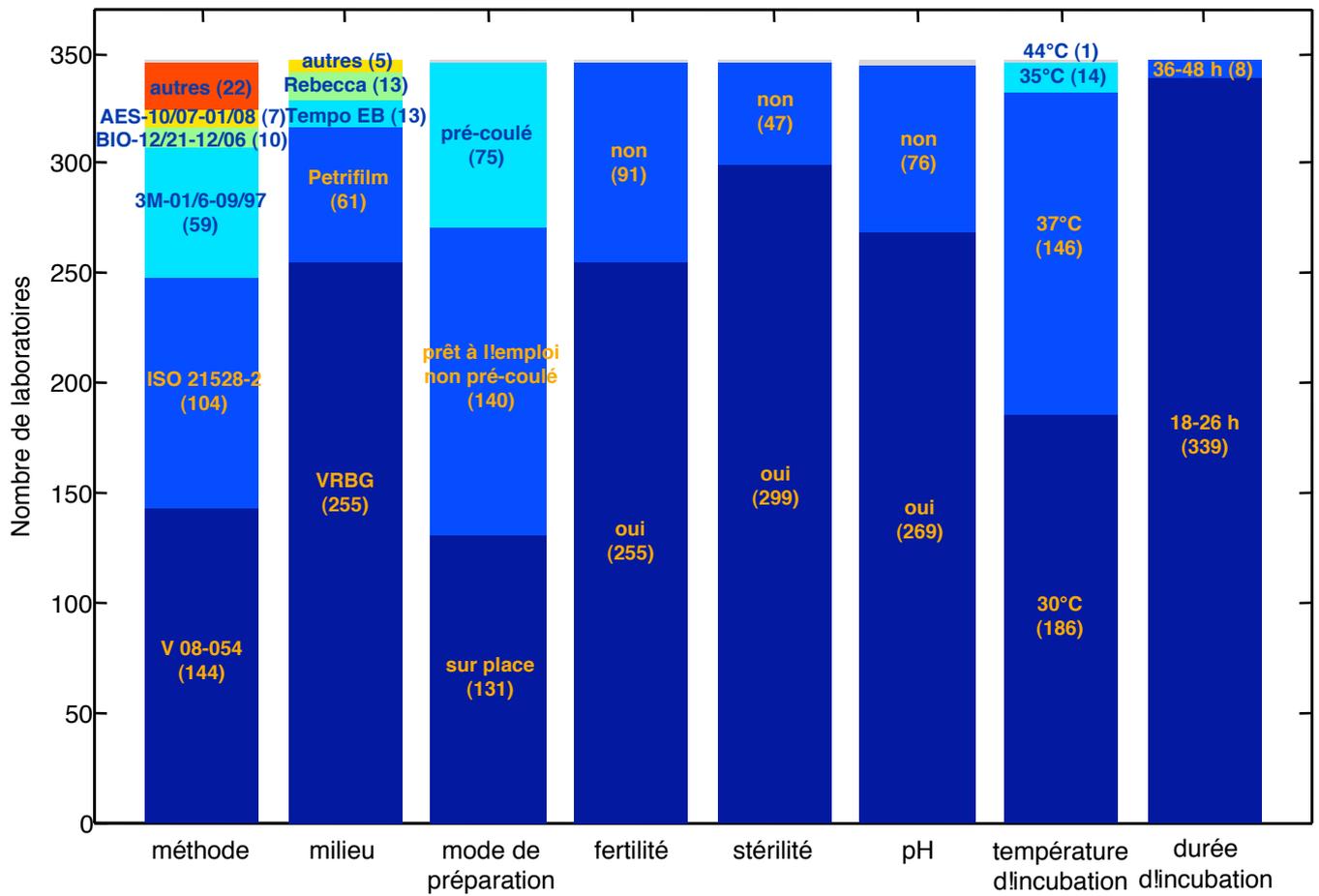
**401** laboratoires réalisent le dénombrement.



29 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

## 2.5. ENTEROBACTERIES

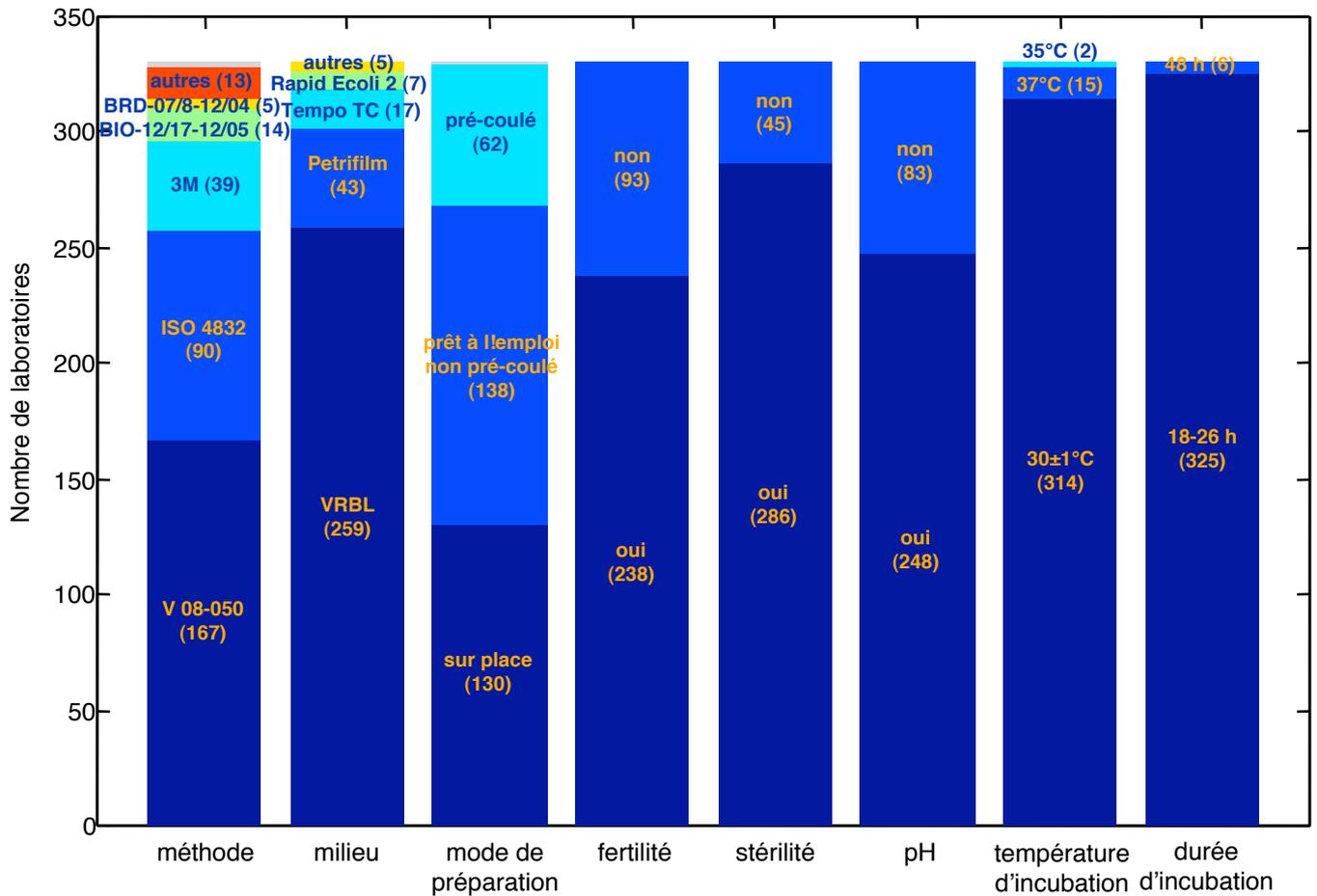
347 laboratoires réalisent le dénombrement.



5 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

## 2.6. COLIFORMES TOTAUX

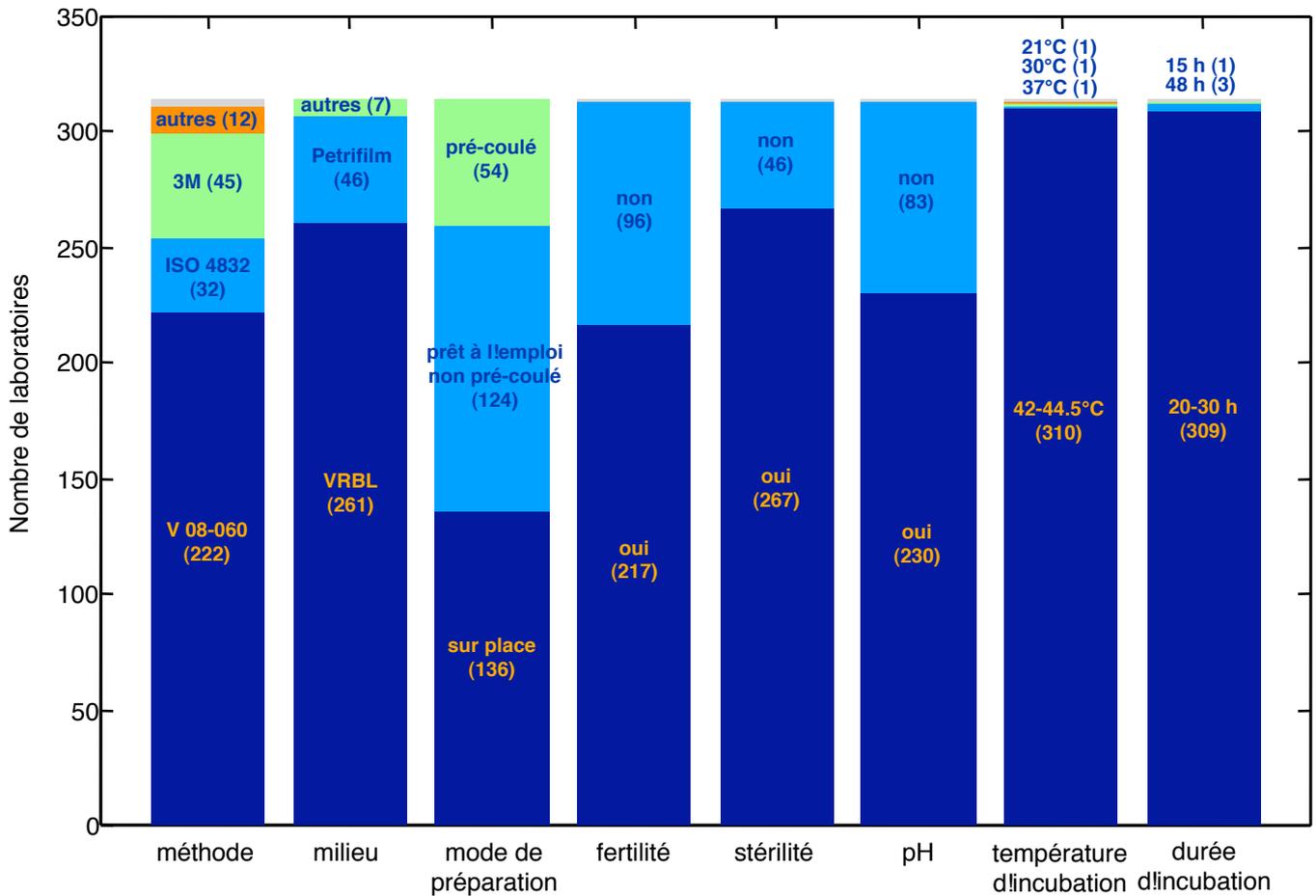
**331** laboratoires réalisent le dénombrement.



5 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

## 2.7. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

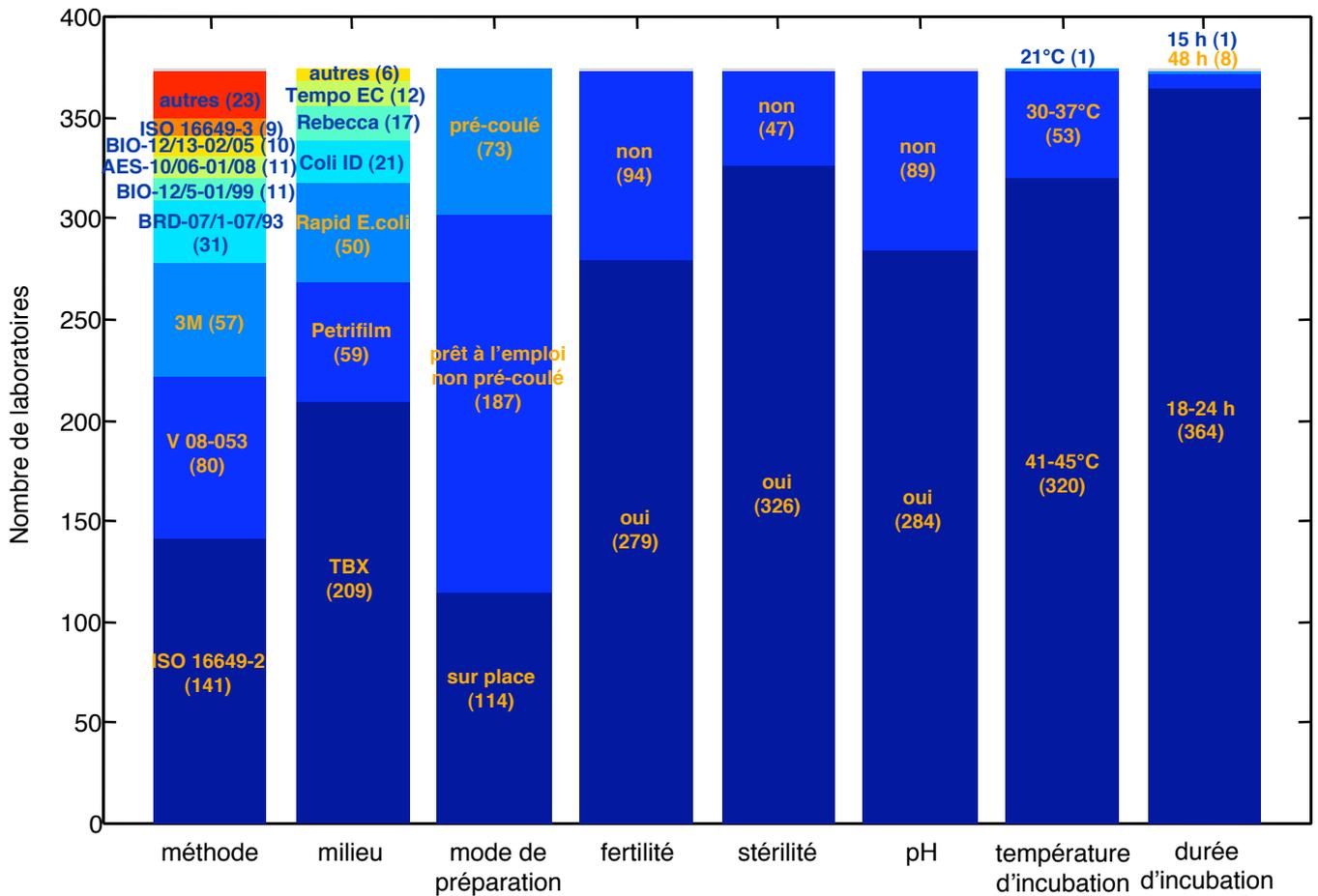
314 laboratoires réalisent le dénombrement.



3 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

## 2.8. ESCHERICHIA COLI

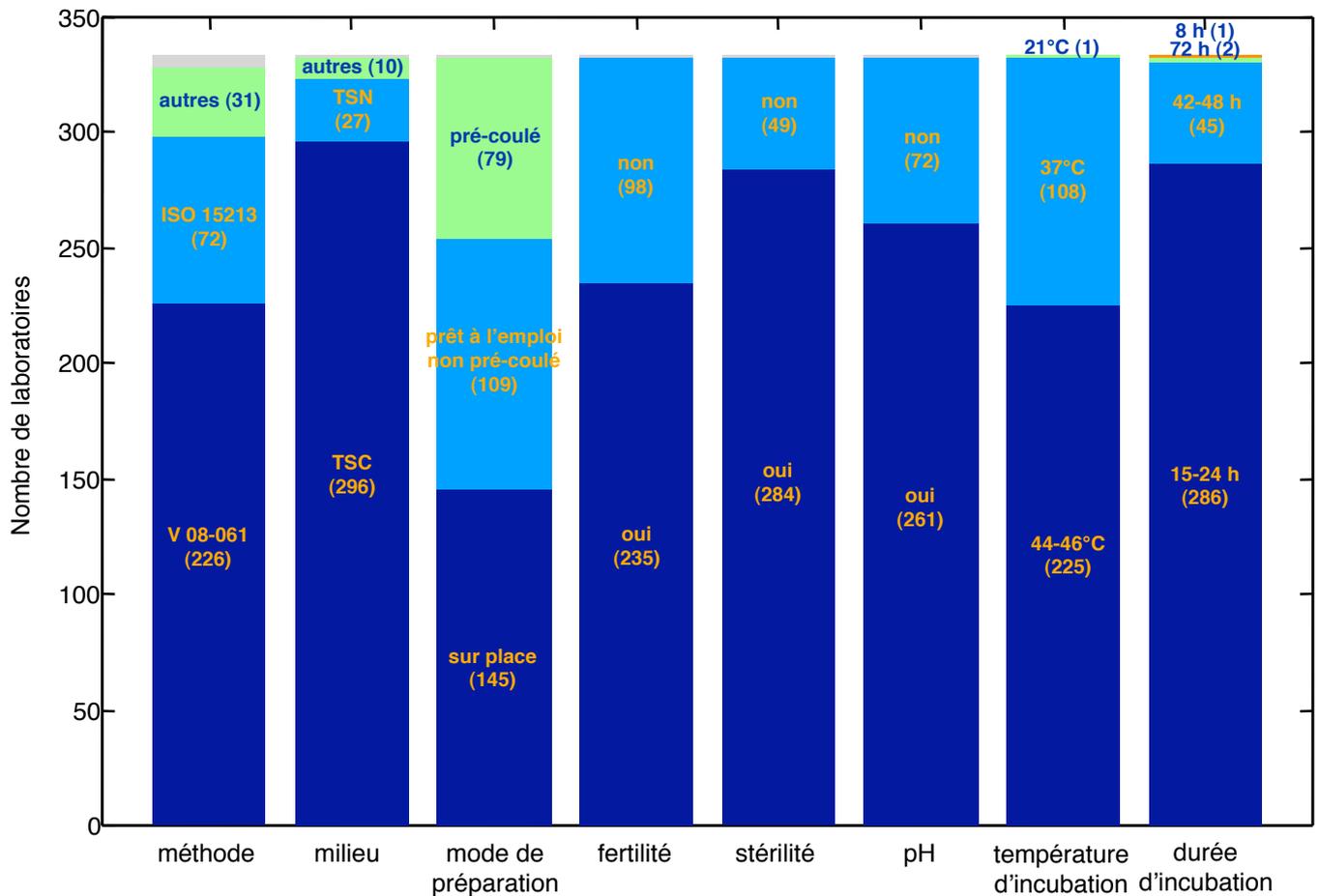
374 laboratoires réalisent le dénombrement.



8 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

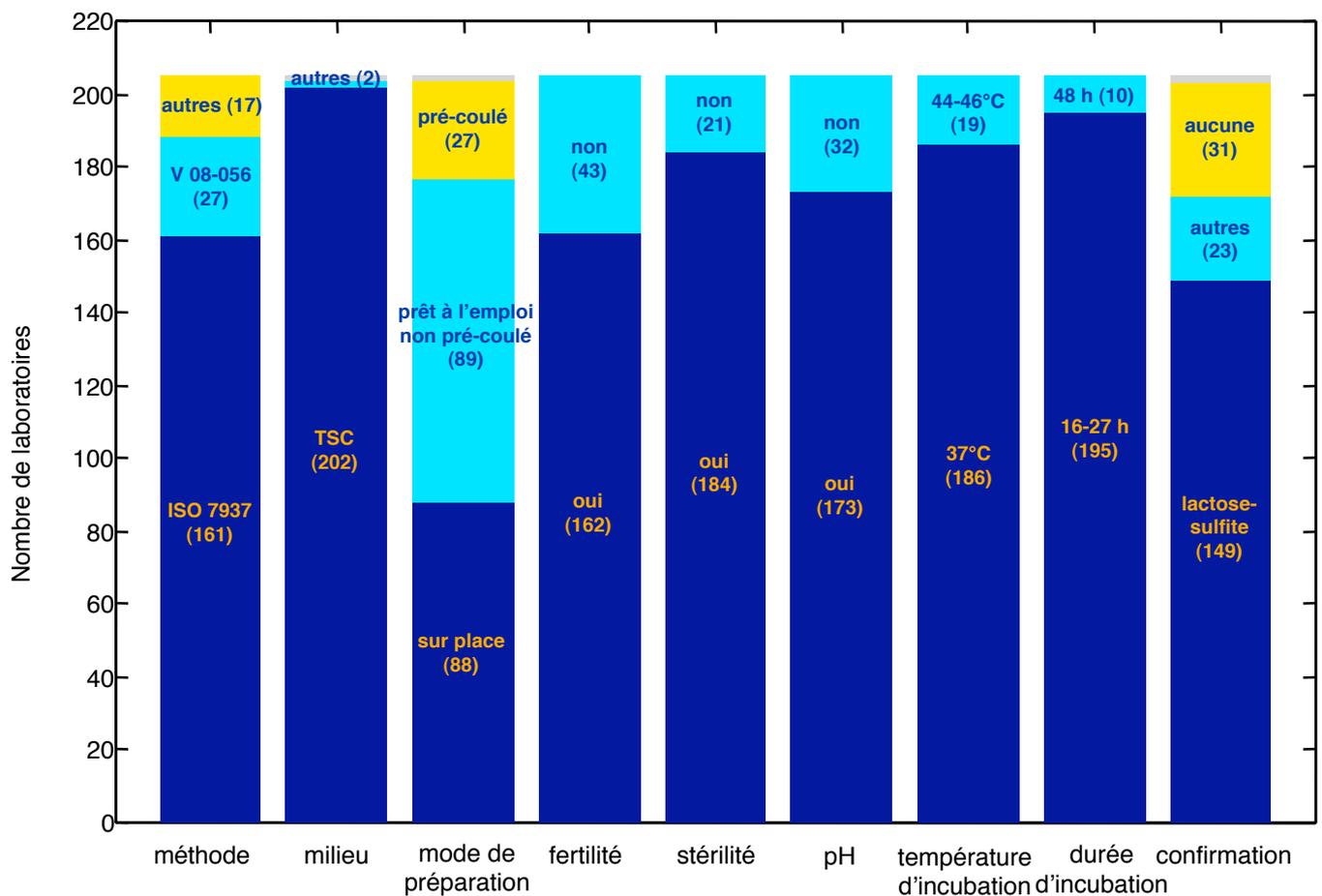
## 2.9. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

**334** laboratoires réalisent le dénombrement.



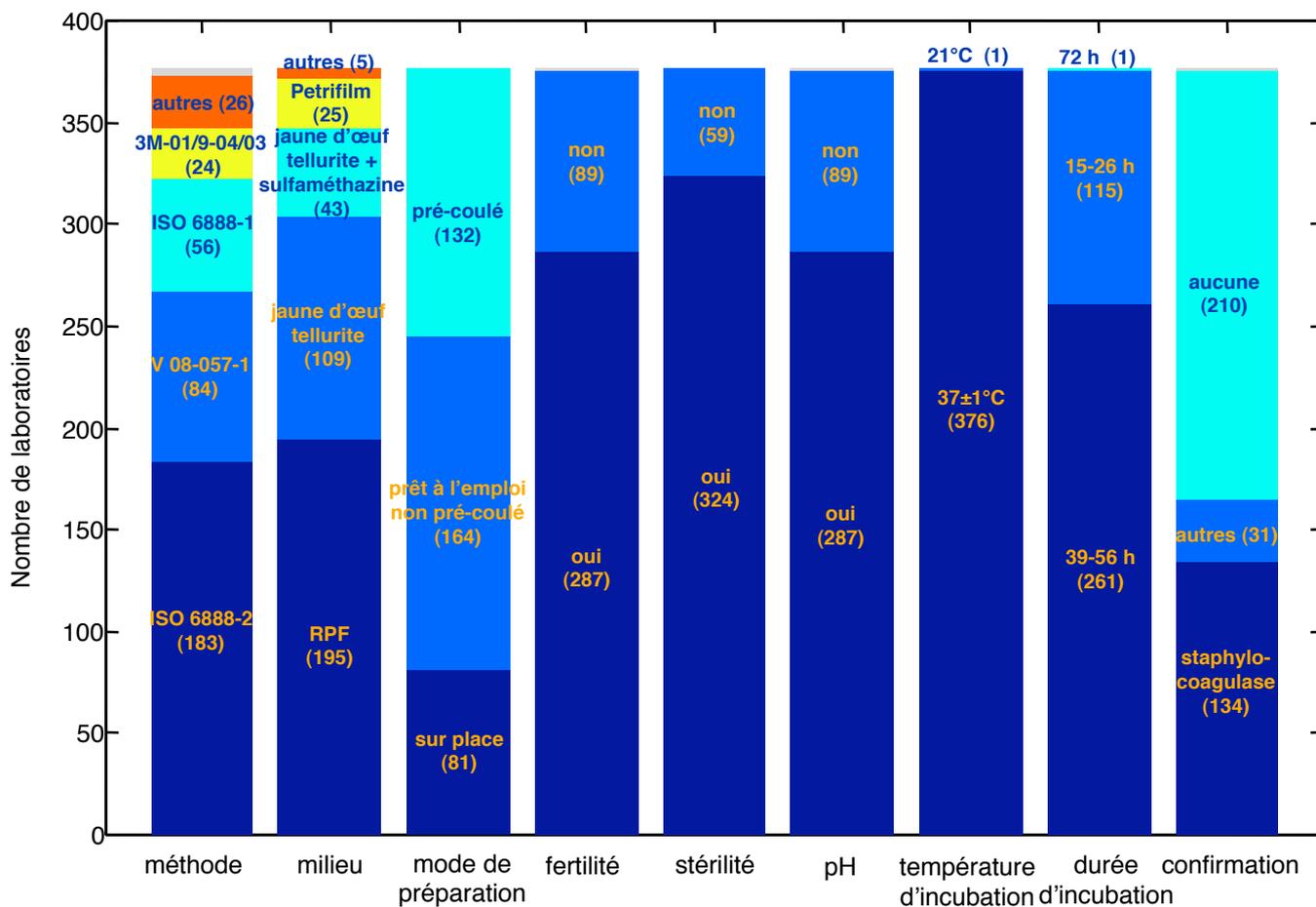
## 2.10. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

205 laboratoires réalisent le dénombrement.



## 2.11. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

377 laboratoires réalisent le dénombrement.



10 laboratoires appliquent la norme V 08-100 (ensemencement et dénombrement "Spiral").

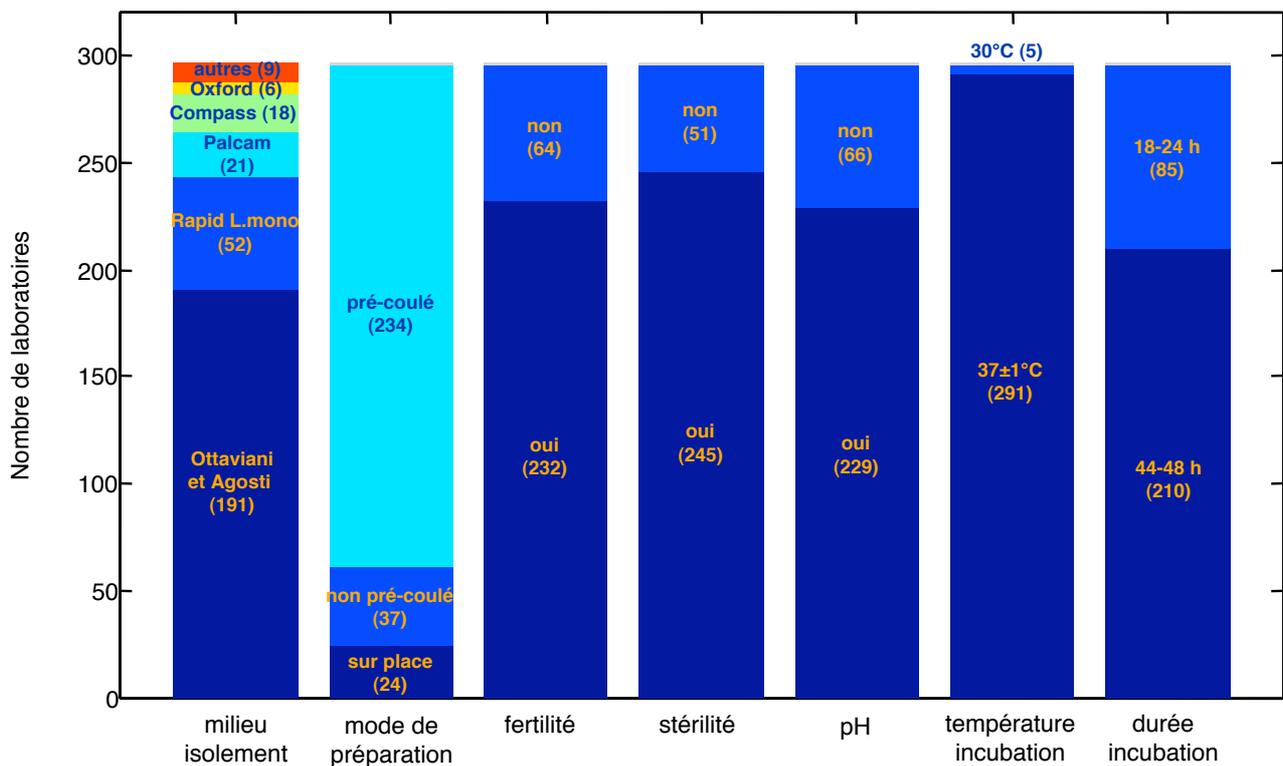
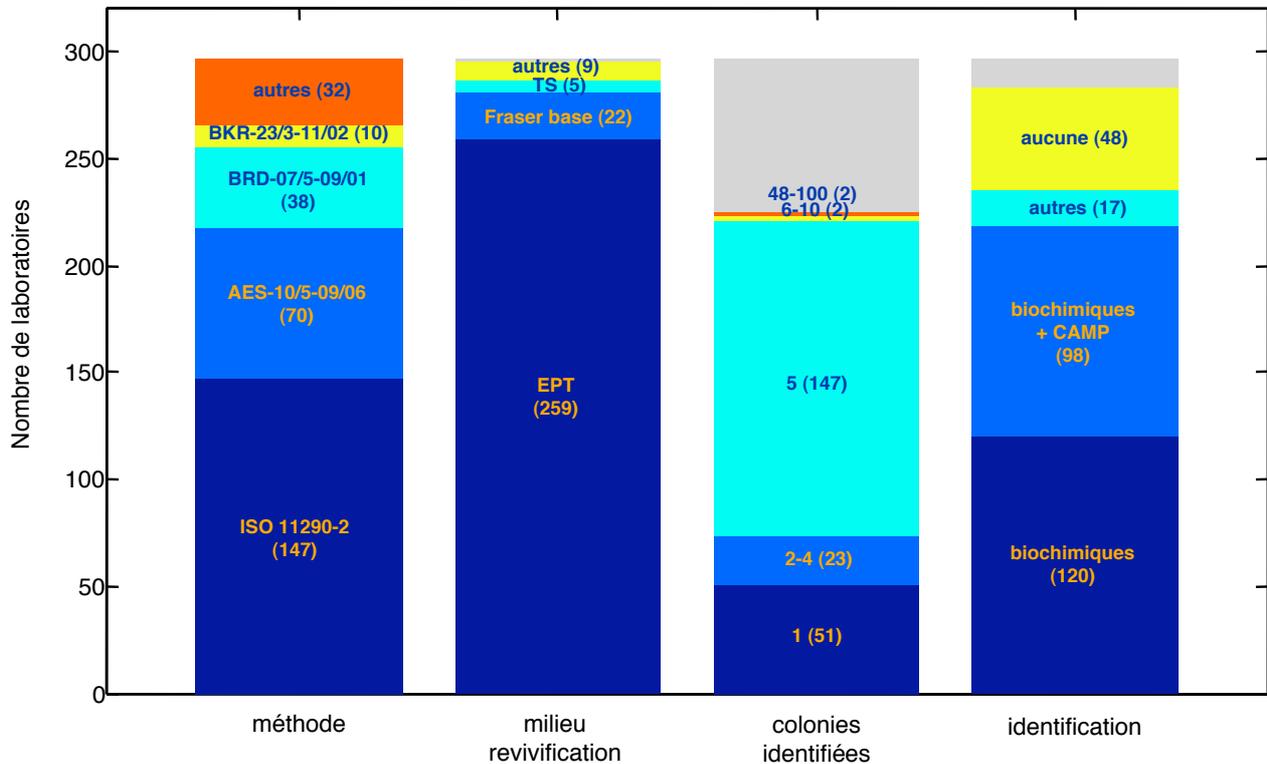
## 2.12. LISTERIA MONOCYTOGENES – DENOMBREMENT

297 laboratoires réalisent le dénombrement.

### REVIVIFICATION

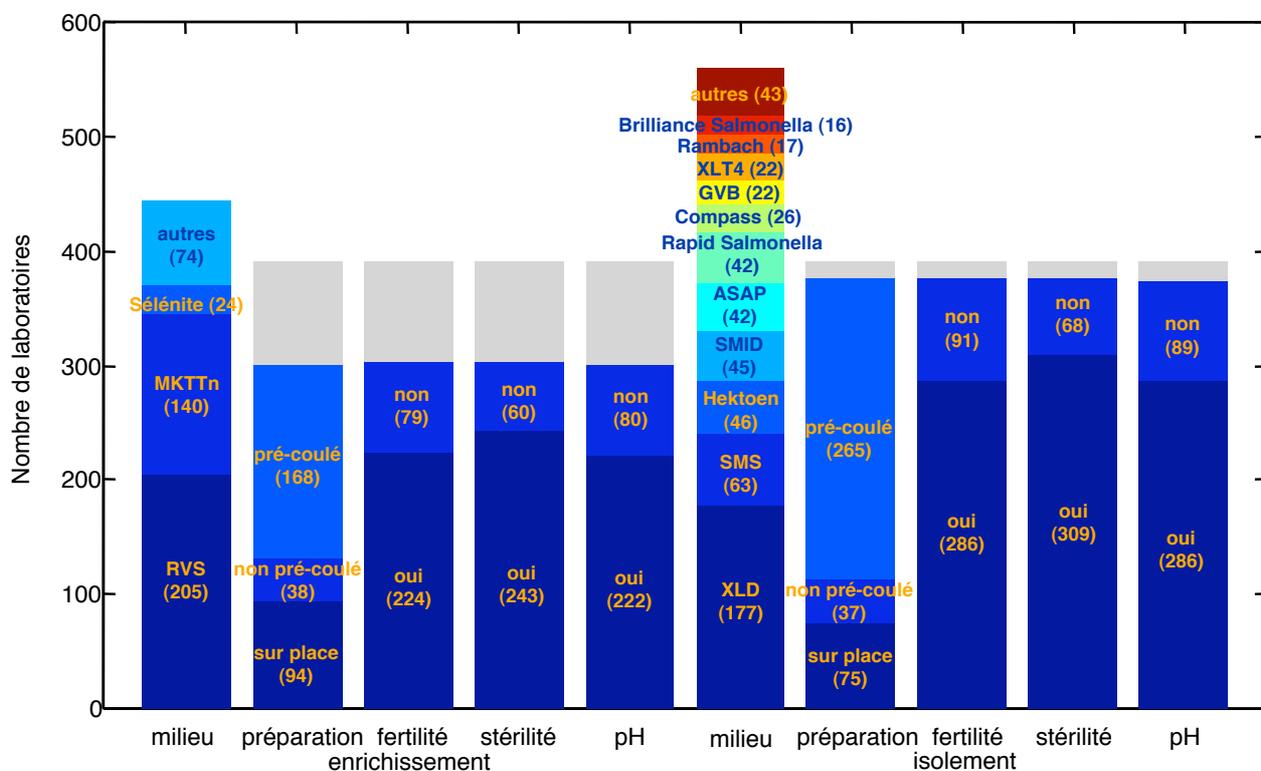
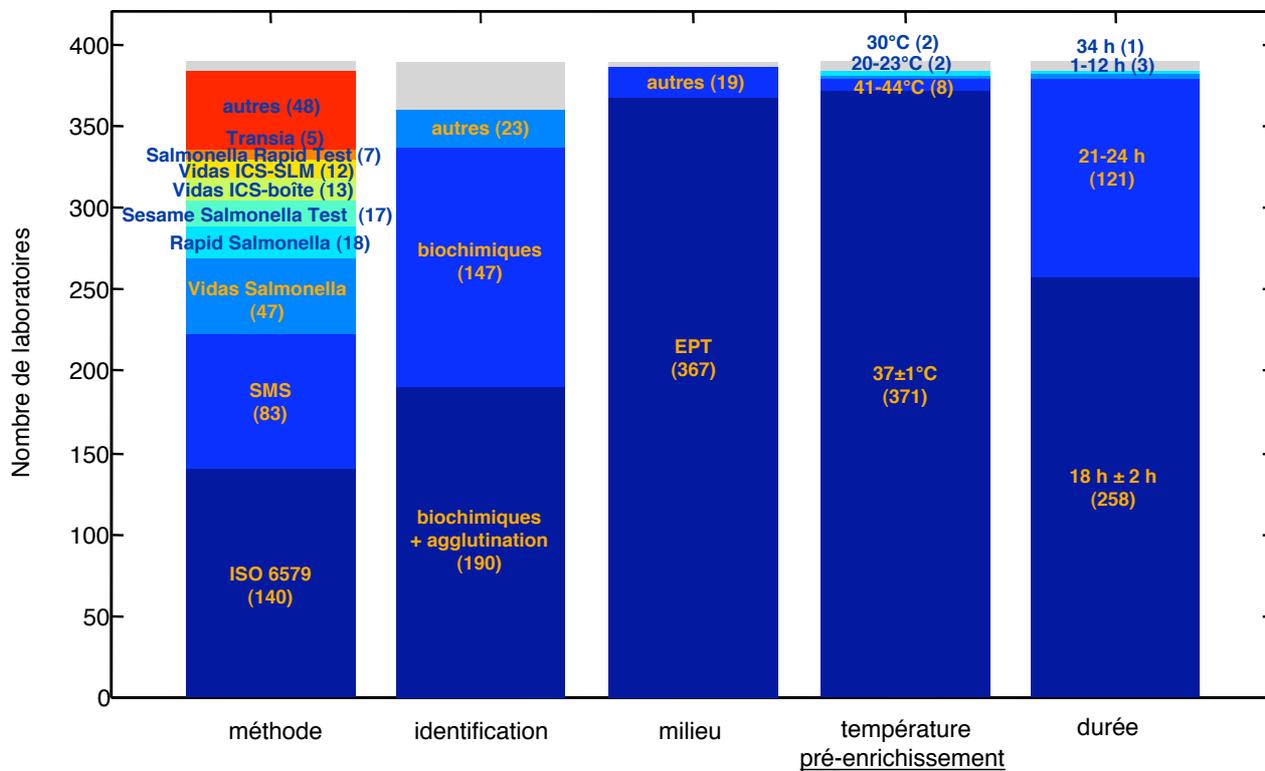
La durée moyenne est de **53.8 min** avec un écart-type de 14.8 min.

La température moyenne est de **20.8°C** avec un écart-type de 1.8°C.



## 2.13. SALMONELLA – RECHERCHE

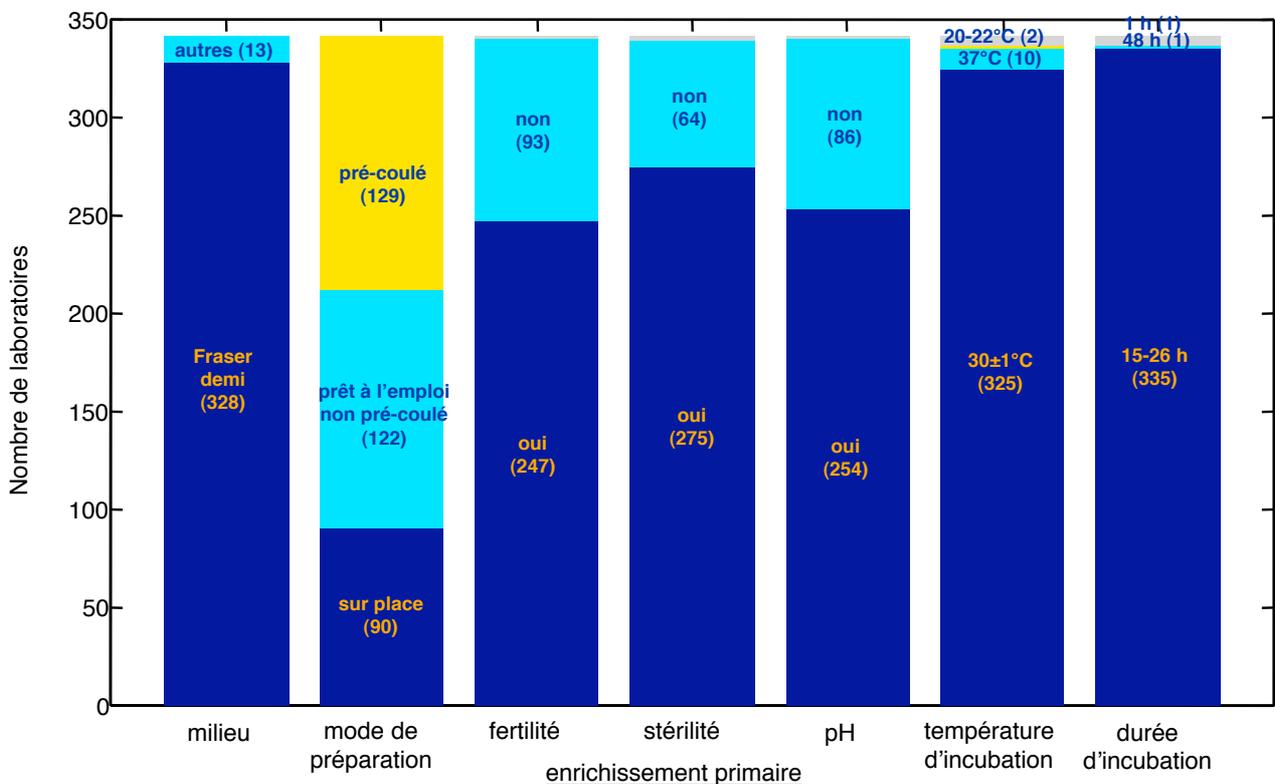
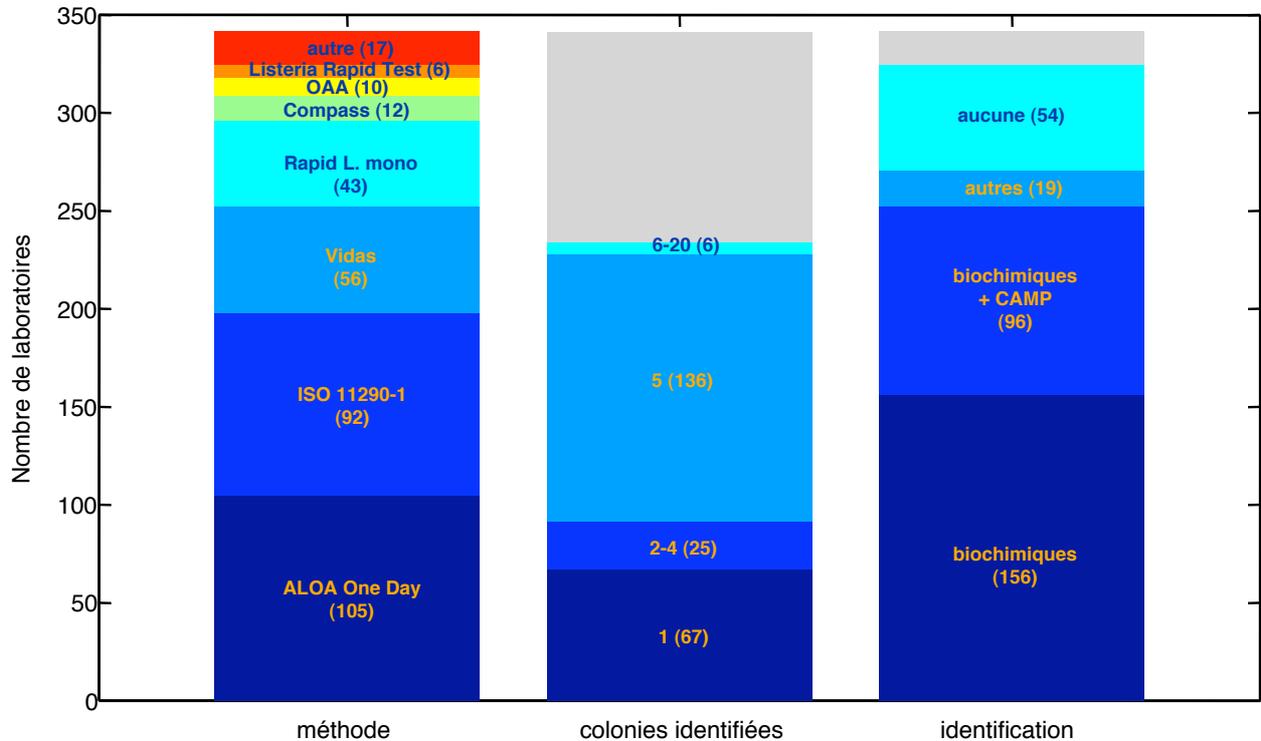
390 laboratoires effectuent la recherche.

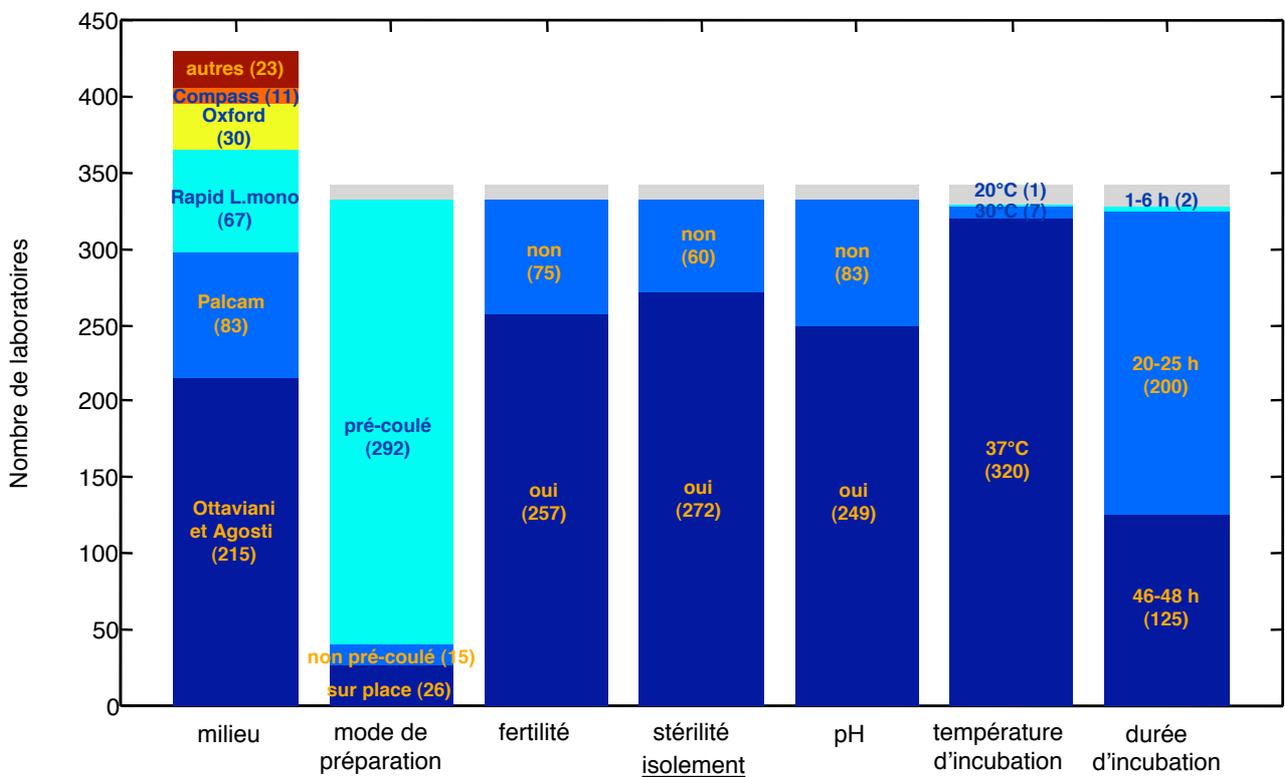
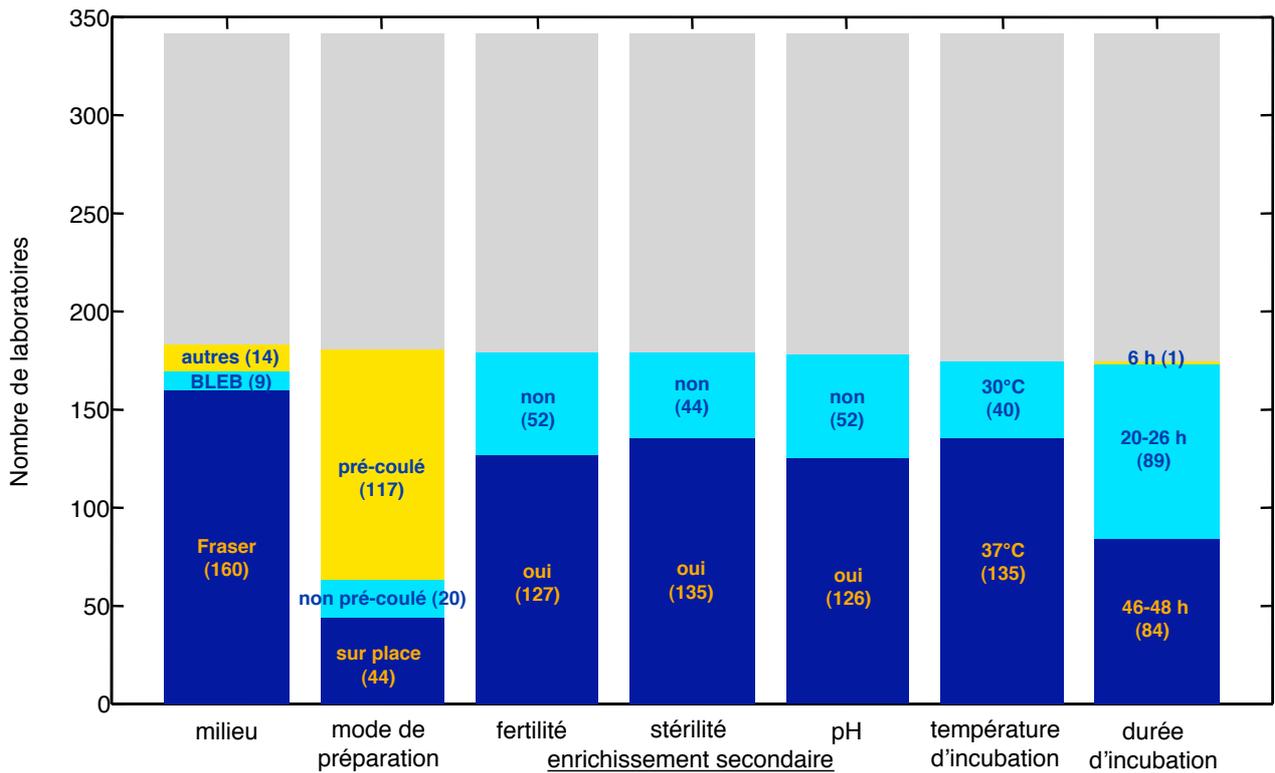


Les nombres totaux de milieux d'enrichissement et d'isolement sont supérieurs à 390 car les laboratoires peuvent utiliser plusieurs milieux.

## 2.14. LISTERIA MONOCYTOGENES – RECHERCHE

342 laboratoires effectuent la recherche.





Les nombres totaux de milieux d'enrichissement et d'isolement sont supérieurs à 342 car les laboratoires peuvent utiliser plusieurs milieux.

### 3. EVALUATION DE LA PERFORMANCE (RAPPORTS INDIVIDUELS)

#### 3.1. PERFORMANCES EN DENOMBREMENT

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

Les valeurs assignées pour ces deux critères 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 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.

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 ISO 11133-2).

#### FIDELITE

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

Cette fidélité est appréciée pour le dénombrement d'une flore non spécifique à fort niveau de contamination (micro-organismes aérobies mésophiles) et pour une flore spécifique à plus faible niveau de contamination (*Escherichia coli* ou Staphylocoques à coagulase positive).

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

Un indice est ensuite calculé en appliquant la formule suivante :  $i = 4 \cdot \frac{s^2}{s^{*2}}$ .

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. 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 de surveillance.

Pour les autres flores, nous indiquons désormais dans ce rapport l'écart-type de fidélité assigné,  $s^*$ , ce qui vous permet de faire votre propre interprétation de la fidélité de vos résultats.

Nous précisons également, à titre indicatif, l'estimation de l'écart-type de la contamination des échantillons fournis (correspondant à la variabilité de la contamination artificielle de la poudre).

## 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,  $m$ , 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 moyennes obtenues 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  $\sigma$  est l'écart-type pour l'évaluation de l'aptitude (estimation robuste de l'écart-type des moyennes obtenues 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.

Nous précisons dans ce rapport, les estimations des écart-types interlaboratoires pour les dénombrements proposés ainsi que les écart-types de reproductibilité ou écart-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 une astérisque indiquant la position de votre résultat,
- écart-type (fidélité) ou moyenne (justesse) de vos 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 assigné (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 de surveillance,
- nombre de laboratoires obtenant un signe d'action.

### 3.1.1. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

Ecart-type de fidélité : 0.080 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 4.83 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.098 log ufc/g.

Un "effet" significatif du milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.15 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.053 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.091 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.122 log ufc/g.

### 3.1.2. ENTEROBACTERIES

Ecart-type de fidélité : 0.159 log ufc/g.

Un "effet" significatif du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination supérieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en trois groupes.

Groupe 1 : Valeur assignée de la contamination : 2.62 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.156 log ufc/g.

Groupe 2 : Valeur assignée de la contamination : 2.24 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.226 log ufc/g.

Groupe 3 : Valeur assignée de la contamination : 1.99 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.286 log ufc/g.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.119 log ufc/g, écart-types interlaboratoires : 0.138, 0.215, 0.277 log ufc/g pour les groupes 1, 2 et 3, écart-type de reproductibilité : 0.211, 0.267, 0.319 log ufc/g pour les groupes 1, 2 et 3.

### 3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

Ecart-type de fidélité : 0.171 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 2.21 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.268 log ufc/g.

Un "effet" significatif du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.126 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.257 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.309 log ufc/g.

### 3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

Ecart-type de fidélité : 0.185 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 2.10 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.232 log ufc/g.

Un "effet" significatif du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.134 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.217 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.285 log ufc/g.

### **3.1.5. *ESCHERICHIA COLI***

Ecart-type de fidélité : 0.214 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 1.91 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.212 log ufc/g.

Un "effet" significatifs du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.140 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.189 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.286 log ufc/g.

### **3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS**

Seules les unités n°2, 3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

Ecart-type de fidélité : 0.146 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 2.95 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.177 log ufc/g.

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

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.136 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.162 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.218 log ufc/g.

Remarque : 5 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 1 ufc/g à 1 100 ufc/g.

### **3.1.7. *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS***

Seules les unités n°2, 3, 4 et 5 étaient artificiellement contaminées.

Ecart-type de fidélité : 0.140 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 2.93 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.147 log ufc/g.

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

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.130 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.192 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.190 log ufc/g.

Remarque 1 : 1 laboratoire a détecté *C. perfringens* dans l'unité non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination de 1 000 ufc/g.

Remarque 2 : 19 laboratoires ont obtenu des résultats plus faibles après confirmation.

### 3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Ecart-type de fidélité : 0.104 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 3.63 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.138 log ufc/g.

Un "effet" significatif du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.073 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.130 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.166 log ufc/g.

### 3.1.9. LISTERIA MONOCYTOGENES

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

Ecart-type de fidélité : 0.110 log ufc/g.

Valeur assignée de la contamination : 3.58 log ufc/g.

Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude : 0.119 log ufc/g.

Un "effet" significatif du fabricant de milieu de culture a été mis en évidence. Cet effet se traduisant par une différence de contamination inférieure à 0.30 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe.

Informations complémentaires : écart-type de la contamination : 0.078 log ufc/g, écart-type interlaboratoires : 0.101 log ufc/g, écart-type de reproductibilité : 0.149 log ufc/g.

## 3.2. PERFORMANCES EN RECHERCHE

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. RECHERCHE – SALMONELLA

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

372 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

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

15 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 10 et 10 faux-négatifs pour les unités n°3 et 5).

### 3.2.2. RECHERCHE – LISTERIA MONOCYTOGENES

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

324 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

11 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 7 et 7 faux-positifs pour les unités n°1 et 2).

13 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 3, 9 et 4 faux-négatifs pour les unités n°3, 4 et 5).

## 3.3. EVOLUTION DE LA PERFORMANCE

Vous trouverez, à la fin du rapport individuel, des graphiques présentant l'évolution de votre performance sur les différents essais depuis la 31<sup>ème</sup> campagne.

48<sup>ème</sup> campagne (édition 15/04/09)

19/19