



# **COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »**



# CAMPAGNE N° 72 (8 MARS 2021) RAPPORT GENERAL

« Toute reproduction du présent rapport doit se faire dans son intégralité »

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

<sup>(1)</sup>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 RENSEIGNEMENT CONCERNANT L'ECHANTILLON	3
	1-3-1 NATURE	3
	1-3-2 TAILLE	
	1-3-3 CONTROLE DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE DES ECHANTILLONS	
	1-3-4 FLORES A DENOMBRER ET A DETECTER	
	1-4 MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES	
	1-4-1 DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS	
	1-4-2 TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE	
<b>2</b> -	EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSE	4
	2-1 PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE	
	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	
	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
2	EVALUATION DE LA PERFORMANCE	40
	3-1 PERFORMANCES EN DENOMBREMENT	
	3-1-1 MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES	
	3-1-2 ENTEROBACTERIES	
	3-1-3 COLIFORMES TOTAUX	
	3-1-4 COLIFORMES THERMOTOLERANTS	
	3-1-5 ESCHERICHIA COLI	22
	3-1-6 ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS	22
	3-1-7 CLOSTRIDIUM PERFRINGENS	
	3-1-8 STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE	
	3-1-9 LISTERIA MONOCYTOGENES – DENOMBREMENT	
	3-2 PERFORMANCES EN DETECTION	
	3-2-1 DETECTION – SALMONELLA	
	3-2-2 DETECTION - LISTERIA MONOCYTOGENES	
	3-3 EVOLUTION DE LA PERFORMANCE	24





# 1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

# 1.1.LABORATOIRES PARTICIPANTS

**341 laboratoires** ont participé à la 72<sup>ème</sup> campagne. Cet envoi a été effectué le Lundi 8 mars 2021. **337** réponses (98.8%) 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+11	J0+14	J0+16
Nb laboratoires	8	208	54	23	21	4	2	8	3	1	1	1	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 10<sup>5</sup> ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de Citrobacter sp. à une concentration d'environ 10<sup>3</sup> ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de Serratia liquefaciens à une concentration d'environ 5.10<sup>2</sup> ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 2.10<sup>2</sup> 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 3.10<sup>3</sup> ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de Salmonella Anatum à une concentration d'environ 25 ufc/g dans 1 unité ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 6.10<sup>2</sup> 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 15, 22 et 29 mars 2021. 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

336 laboratoires (99.7%) le précisent.

Délai d'analyse	JO	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+11	J0+14	J0+15	J0+18	J0+21
Nb de laboratoires	0	40	48	34	5	1	1	141	46	6	2	1	6	3	1	1

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

**334** laboratoires (97.9%) la précisent. La température moyenne est de **3.9°C** avec un écart-type de 0.8°C. Les valeurs 14, 18, 20, 25 et 30°C renseignées par 5 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 337 réponses (100%) :

216 laboratoires (64.1%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre. 121 laboratoires (35.9%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

### 2.2.DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE

Pour 335 réponses (99.4%) :

270 laboratoires (80.1%) utilisent de l'eau peptonée tamponnée pour la suspension mère.

56 laboratoires (16.6%) utilisent du tryptone sel pour la suspension mère.

9 laboratoires (2.7%) utilisent un diluant autre pour la suspension mère.

# 2.3.TECHNIQUES D'HOMOGÉNÉISATION UTILISÉES

Pour **336** réponses (99.7%) :

313 laboratoires (92.9%) homogénéisent leur prélèvement avec un Stomacher ND

23 laboratoires (6.8%) utilisent une autre technique (manuelle, magnétique ou autre).

### 2.4. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

### 2.4.1. **DUREE**

**315** laboratoires (93.5%) la précisent.

La durée moyenne est de **27.4 min** avec un écart-type de 14.8 min. Les valeurs 90, 120, 180 et 1440 min renseignées par 6 laboratoires n'ont pas été prises en compte dans ce calcul.

#### 2.4.2. TEMPERATURE

322 laboratoires (95.5%) la précisent.

La température moyenne est de 21.3°C avec un écart-type de 3.3°C.





# 2.5.MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 4833-1 AFNOR 3M-01/1-09/89 NM ISO 4833-1	203 48 26
	AFNOR BIO-12/35-05/13	13
	ISO/NF EN ISO 4833-2	10
	XP V08-034	5 16
	Autres + V08-100 (spiral)	16
Milieu	Plate Count Agar	239
	Petrifilms	48
	Plate Count Agar + Lait	18
	Tempo AC	14
	Autres	1
Préparation	Sur place	115
•	Prêt à l'emploi non pré-coulé	132
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	72
Mode d'ensemencement	En surface	64
	Dans la masse	235
	Milieu de culture pour carte	15
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	- 1	13
	- 2	13
	- 3	267
	- 4 - 5	17 1
	1/400	4
	1/4000	1
Température d'incubation	30°C	314
	23-25°C	3
	37°C	2
	33-35°C	2
Durée d'incubation	68-76 h	272
	44-48 h	47
	24-26 h	2





# 2.6.ENTEROBACTÉRIES

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-054  → NM 08.0.109 <sup>(1)</sup> ISO/NF EN ISO 21528-2 AFNOR 3M-01/6-09/97 AFNOR BIO-12/21-12/06 AFNOR AES-10/07-01/08 AFNOR BRD-07/24-11/13 Autres  + V08-100 (spiral)	107 22 73 46 9 8 7 9
Milieu	VRBG Petrifilms Tempo EB Rebecca Rapid'Enterobacteriaceae Autres	205 48 10 9 8 1
Préparation	Sur place Prêt à l'emploi non pré-coulé Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	89 129 62
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	- 1 - 2 - 3 1/40 1/400	209 64 1 2 5
Température d'incubation	37±1°C 30°C 35°C	176 95 10
Durée d'incubation	20-25 h 48 h	274 7
Test de confirmation	Oui Non	66 209

<sup>&</sup>lt;sup>(1)</sup> Méthode similaire à NF V08-054 selon l'Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires (ONSSA).





# 2.7.COLIFORMES TOTAUX

### 233 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-050  → NM 08.0.142 <sup>(2)</sup> ISO/NF ISO 4832 AFNOR 3M NM ISO 4832 AFNOR BIO-12/17-12/05 AFNOR BRD-07/08-12/04 Autres  + V08-100 (spiral)	118 10 50 23 19 4 4 5
Milieu	VRBL Petrifilms Rapid Ecoli Tempo TC Autres	196 25 5 4 3
Préparation	Sur place Prêt à l'emploi non pré-coulé Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	88 116 28
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1 -2 1/40 1/400	208 22 1 2
Température d'incubation	30°C 35°C	218 15
Durée d'incubation	18-25 h 48 h	229 4

### Méthode AFNOR 3M dont :

- 3 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89 A.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm CC.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm coliforme.

<sup>(2)</sup> Méthode similaire à NF V08-050 selon l'ONSSA.





# 2.8.COLIFORMES THERMOTOLERANTS

### 214 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-060	145
	$\rightarrow$ NM 08.0.124 <sup>(3)</sup>	26
	AFNOR 3M	25
	ISO/NF ISO 4832	12
	Autres	5
	+ V08-100 (spiral)	2
Milieu	VRBL	181
	Petrifilms	28
	Autres	4
Préparation	Sur place	84
rieparation	Prêt à l'emploi non pré-coulé	103
	Prêt à l'emploi en boites, films,	26
	cartes	20
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1	195
. anation rotonas	-2	18
	_	. •
Température d'incubation	42-48°C	209
	37°C	2
	30°C	2
Durée d'incubation	15-25 h	209
2 a. co a moderation	48 h	4
		·

### Méthode AFNOR 3M dont :

- 3 laboratoires ont précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89 C.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/05-03/97.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm CC.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm coliforme.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm EC.

<sup>(3)</sup> Méthode similaire à NF V08-060 selon l'ONSSA.





# 2.9.ESCHERICHIA COLI

### 298 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 16649-2 AFNOR 3M NM ISO 16649-2 AFNOR BRD-07/01-07/93 AFNOR BIO-12/13-02/05 AFNOR AES-10/06-01/08 NM 08.0.108 AFNOR BIO-12/05-01/99 ISO/NF EN ISO 16649-3 Autres + V08-100 (spiral)	168 45 23 17 11 8 6 5 2 12
Milieu	TBX Petrifilms Rapid E. coli Tempo EC Rebecca Coli ID Autres	199 46 23 11 10 7 2
Préparation	Sur place Prêt à l'emploi non pré-coulé Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	89 150 57
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film) Dans la masse Milieu de culture pour carte	41 239 13
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1 -2 1/40 1/400	277 11 2 6
Température d'incubation	41-45°C 37±1°C 30°C	264 33 1
Durée d'incubation	18-26 h 48 h 34 h	291 6 1

# 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-01/04-09/92.
- 1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M Petrifilm EC.





# 2.10. ANAÉROBIES SULFITO-RÉDUCTEURS

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-061	154
	$\rightarrow NM \ 08.0.154^{(4)}$	4
	→ NM 08.0.125 <sup>(4)</sup>	14
	ISO/NF ISO 15213	45 12
	NM ISO 15213 Autres	12
	Autres	11
Milieu	TSC	221
	Gélose sulfite de fer	8
	TSN	8
	Autres	3
Préparation	Sur place	91
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	122
	Prêt à l'emploi en boites, films,	27
	cartes	
Mode d'ensemencement	Boîtes	150
	Tubes	89
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1	228
	-2	11
Température d'incubation	44-50°C	171
	37±1°C	67
	30°C	2
Durée d'incubation	16-24 h	201
	44-48 h	32
	72 h	7

<sup>&</sup>lt;sup>(4)</sup> Méthodes similaires à NF V08-061 selon l'ONSSA.





# 2.11. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 7937	159
	NM ISO 7937	24
	NM 08.0.111	2
	Autres	11
Milieu	TSC	191
	Autres	3
Préparation	Sur place	64
•	Prêt à l'emploi non pré-coulé	123
	Prêt à l'emploi en boites, films,	7
	cartes	
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1	190
	-2	4
Température d'incubation	37°C	185
remperature a measurem	44-46°C	11
Durée d'incubation	18-24 h	192
Baree a meabation	48 h	5
	72 h	1
Test de confirmation	Aucun	33
	Lactose-sulfite	136
	Galeries	9
	Autres	5





# 2.12. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2 ISO/NF EN ISO 6888-1 NM ISO 6888-1 AFNOR 3M-01/9-04/03 AFNOR BKR-23/10-12/15 AFNOR BIO-12/28-04/10 NM ISO 6888-2 NordVal No :049 Autres + V08-100 (spiral)	152 66 20 16 14 10 4 2 14
Milieu	RPF BP+jaune d'œuf tellurite BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine Easy Staph Petrifilm Tempo STA Rapid Staph Autres	144 86 18 18 17 10 3
Préparation	Sur place Prêt à l'emploi non pré-coulé Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	72 124 100
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film) Dans la masse Milieu de culture pour carte	148 136 10
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1 -2 -3 1/40 1/400	112 176 4 3 4
Température d'incubation	37±1°C 27-30°C 44°C	295 3 1
Durée d'incubation	42-48 h 18-26 h 72 h 36-39 h	208 88 1 2
Test de confirmation	Aucun Staphylo-coagulase libre Coagulase liée DNase Autres	187 82 7 11 4





# 2.13. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

241 laboratoires réalisent le dénombrement.

### **REVIVIFICATION**

64 laboratoires déclarent réaliser une étape de revivification.

La durée moyenne pour ces laboratoires est de 45.0 min avec un écart-type de 18.7 min.

La température moyenne pour ces laboratoires est de 21.3°C avec un écart-type de 3.1°C.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 11290-2 AFNOR AES-10/05-09/06 AFNOR BKR-23/05-12/07 AFNOR BRD-07/05-09/01 NM ISO 11290-2 AFNOR BRD-07/17-01/09 Autres	69 61 51 22 22 8 6
Etape de revivification	Oui Non	70 158
Milieu de revivification	Eau peptonée tamponnée Fraser base Autres	54 13 2
Milieu d'isolement	ALOA Count Compass Listeria Rapid Lmono AL Agar OCLA Palcam Autres	117 77 23 14 3 3
Préparation	Sur place Prêt à l'emploi non pré-coulé Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	31 54 153
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film) Dans la masse Milieu de culture pour carte	195 42 0





Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1 <sup>ère</sup> dilution retenue	-1	226
	-2	14
Température d'incubation	37°C	237
·	30°C	2
Durée d'incubation	43-49 h	195
	24 h	44
Test de confirmation	Aucun	47
	Biochimiques	138
	Biochimiques + CAMP	37
	Autres	10
Nb colonies testées	1	57
	2-4	20
	5	98
	6	1





# 2.14. SALMONELLA - DETECTION

**306** laboratoires effectuent la recherche.

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

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	AFNOR BKR 23/07-10/11 (IRIS Salmonella)	74
	ISO/NF EN ISO 6579-1	73
	AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)	33
	NM ISO 6579-1	33
	AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)	25
	AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)	24
	AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)	23
	Autres	21

Aucun détail de méthodologie n'a été demandé aux laboratoires utilisant des méthodes autres que la méthode ISO/NF EN ISO 6579-1 et proposées dans le questionnaire de saisie.

Vous trouverez, ci-dessous, un bref descriptif de ces méthodes :

Méthode	Pré-enrichissement	Enrichissement	Isolement	
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 12/32-10/11 VIDAS SPT		EPT + Salmonella supplément / 41,5°C - Chrom ID / 37°C - 24h		
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 12/41-03/17 SALMA One day		EPT + Salmonella supplément / 41.5°C – 16/24h	SALMA / 37°C - 24±3h	





Le détail de la méthodologie suivie par les 106 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 et NM ISO 6579-1, ainsi que les 21 laboratoires utilisant une méthode autre, est précisé dans le tableau ci-dessous :

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6579-1	73
	NM ISO 6579-1	33
	Autres	21
Milieu pré-enrichissement	Eau peptonée tamponnée	118
	Autres	8
Température pré-enrichissement	37±1°C	117
	41-42.5°C	7
	20-22°C	2
Durée pré-enrichissement	16-20 h	91
	21-24 h	34
	8 h	1
Milieux enrichissement	RVS	108
	MKTTn	101
	Bouillon sélénite-cystine	24
	Autres	5
Milieux isolement	XLD	100
	Hektoen	33
	Sulfite de Bismuth ASAP	22 13
	IRIS Salmonella agar	10
	Brilliance Salmonella	10
	GVB	10
	SS	8
	Rapid Salmonella	7
	Compass Salmonella	6 3
	Rambach Autres	3 11
	Autics	
Test de confirmation	Biochimiques	55
	Biochimiques + agglutination	61
	Autres	5





# 2.15. LISTERIA MONOCYTOGENES - DETECTION

**272** laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 11290-1	64
	AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)	58
	AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)	54
	NM ISO 11290-1	26
	AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)	23
	AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)	9
	AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)	7
	AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)	6
	AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)	5
	AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)	4
	AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria Precis)	3
	AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMÓ)	2
	Autres	11

Aucun détail de méthodologie n'a été demandé aux laboratoires utilisant des méthodes autres que la méthode ISO/NF EN ISO 11290-1 et proposées dans le questionnaire de saisie.

Vous trouverez, ci-dessous, un bref descriptif de ces méthodes :

Méthode	Enrichiss	Enrichissement primaire		ssement secondaire	Isolement
Metriode	Milieu Incubation Milieu Incubation		Incubation	isolelliellt	
AFNOR BRD 07/04-09/98 Rapid' L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Rapid L'mono 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 12/27-02/10 VIDAS LMX	LMX	37°C - 26/30h			ChromID 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 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 07/16-01/09 Agar Listeria	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Agar Listeria 37°C – 24h
AFNOR UNI 03/04-04/05 Listeria Precis	One Broth Listeria	30°C - 24±2h			Brilliance Listeria 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 12/18-03/06 VIDAS LDUO	LX	30°C - 24±2h	LX	30°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford





Le détail de la méthodologie suivie par les 90 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 11290-1 et NM ISO 11290-1, ainsi que les 11 laboratoires utilisant une méthode autre, est précisé dans le tableau ci-dessous :

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 11290-1 NM ISO 11290-1 Autres	64 26 11
Milieu enrichissement I	Fraser demi One broth Listeria Autres	87 3 11
Température enrichissement l	30°C 37°C 25°C	92 7 1
Durée enrichissement I	22-28 h 48 h 1 h	95 2 1
Milieu enrichissement II	Fraser Autres	87 1
Température enrichissement II	37°C 30°C 25°C	83 3 1
Durée enrichissement II	23-27 h 45-48 h 1 h	63 22 1
Milieux isolement	Palcam Ottaviani et Agosti Compass Listeria Oxford Rapid L'mono Brilliance Listeria Autres	69 54 31 14 5 3
Température isolement	37°C 30°C	94 3
Durée isolement	48 h 24 h	63 34
Test de confirmation	Aucun Biochimiques Biochimiques + CAMP Autres	6 56 30 4
Test de confirmation Nb de colonies testées	1 2-4 5	26 11 46





# 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 (délai de mise en œuvre des analyses, 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 de surveillance.

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 de surveillance.

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 de surveillance.





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 de surveillance.

#### **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,  $m_{\rm pt}$ , 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  $\sigma_{pt}$  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 de surveillance.

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 de surveillance,
- 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)	5.171		
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0061		
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.0844		
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.0528		
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.0810		
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.0967		

### 3.1.2. ENTEROBACTERIES

Un "effet" significatif du mode de préparation de la suspension mère, 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)	2.707	3.039	3.221
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0217	0.0882	0.0229
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.2452	0.2992	0.1203
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)		0.0980	
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.2413	0.2960	0.1120
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.2604	0.3118	0.1488

### 3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

Un "effet" significatif du milieu de culture, du fabricant, du mode de préparation 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)	2.463	2.701	3.096
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0315	0.0278	0.0548
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.2139	0.2385	0.2319
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)		0.0989	
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.2093	0.2344	0.2276
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.2311	0.2540	0.2478





### 3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

Un "effet" significatif du fabricant 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 :

Coliformes thermotolérants	
Valeur assignée de la contamination (log UFC/g)	2.606
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0232
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.2600
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.1116
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.2552
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.2785

#### 3.1.5. ESCHERICHIA COLI

Un "effet" significatif du mode de préparation de la suspension mère et du mode d'ensemencement 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 :

Escherichia coli			
Valeur assignée de la contamination (log UFC/g)	2.430		
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0156		
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.2071		
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.1148		
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.2007		
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.2312		

### 3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

Seules les unités n°3 et 5 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)	2.228
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0168
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.1972
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.1280
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.1752
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.2170

#### Remarques:

- 6 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 130 à 2500 ufc/g.
- 9 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 2600 ufc/g.
- 10 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°4 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 171 à 2300 ufc/g.





### 3.1.7. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

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

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

Clostridium perfringens	
Valeur assignée de la contamination (log UFC/g)	2.243
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0168
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.1807
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.0980
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.1669
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.1936

### Remarques:

- 3 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 140 à 2000 ufc/g.
- 2 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 63 à 2100 ufc/q.
- 5 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°4 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 10 à 1800 ufc/g.

### 3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Un "effet" significatif de la durée de révivification 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)	3.583	
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0116	
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.1549	
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.0727	
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.1515	
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.1680	

#### 3.1.9. LISTERIA MONOCYTOGENES

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

Un "effet" significatif du mode de préparation de la suspension mère 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 :

Listeria monocytogenes	
Valeur assignée de la contamination (log UFC/g)	2.789
Incertitude de la valeur assignée (log UFC/g)	0.0089
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log UFC/g)	0.1066
Ecart-type de fidélité (log UFC/g)	0.0726
Ecart-type interlaboratoires (log UFC/g)	0.0980
Ecart-type de reproductibilité (log UFC/g)	0.1220





### 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

Seule l'unité n°3 était artificiellement contaminée.

300 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

4 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 3, 2, 4 et 1 faux-positifs pour les unités n°1, 2, 4 et 5).

2 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs pour l'unité n°3.

### 3.2.2. DETECTION - LISTERIA MONOCYTOGENES

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

261 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

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

5 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 2, 4 et 2 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 52<sup>ème</sup> 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 de surveillance (2<z<3 ou -3<z<-2),
- 6 scores z consécutifs augmentant ou diminuant régulièrement.