

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »



CAMPAGNE N° 75 (3 OCTOBRE 2022) RAPPORT GENERAL

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

« L'utilisation du logo Cofrac ne peut se faire en dehors de ce rapport »

« 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 »

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

⁽¹⁾Coordonnateur de la comparaison interlaboratoires « RAEMA »

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

341 laboratoires ont participé à la 75^{ème} campagne. Cet envoi a été effectué le lundi 3 octobre 2022. **333 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+11	J0+13
Nb laboratoires	7	200	67	21	19	1	1	5	6	3	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 1.10^5 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Citrobacter sp.* à une concentration d'environ 1.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Serratia liquefaciens* à une concentration d'environ 1.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 5.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ 5.10^2 ufc/g dans 4 unités ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ 5.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Salmonella* Anatum à une concentration d'environ 50 ufc/g dans 3 unités ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 5.10^2 ufc/g dans 4 unités.

Les échantillons ont été préparés entre août et octobre 2022. La maintenance des souches bactériennes, le contrôle de leur contamination et les contrôles de pureté sont confiés à un sous-traitant.

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 10, 17 et 24 octobre 2022. Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire sous-traitant sous accréditation Cofrac.

L'homogénéité et la stabilité des échantillons sont validées.

1.3.4. FLORES A DENOMBRER OU A DETECTER

Il était proposé le dénombrement des flores suivantes : micro-organismes aérobies mésophiles, entérobactéries, coliformes totaux et thermotolérants, *Escherichia coli* beta-glucuronidase positive, anaérobies sulfite-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

333 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+11	J0+14	J0+15
Nb de laboratoires	35	40	28	4	3	130	51	20	7	3	7	5

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

332 laboratoires (99.7%) la précisent. La température moyenne est de **4.0°C** avec un écart-type de 0.9°C. Les valeurs 15.2, 20, 22, 24.5 et 25°C renseignées par 7 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

329 laboratoires la précisent (98.8%).

La taille moyenne est de **17.8 g** avec un écart-type de 7.9 g. La taille minimale renseignée est 1 g et la taille maximale 50 g.

2.2. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour 333 réponses (100%) :

212 laboratoires (63.7%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre.

118 laboratoires (35.4%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

3 laboratoires (0.9%) préparent la suspension mère d'une façon autre.

2.3. DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE

Pour 332 réponses (99.7%) :

287 laboratoires (86.2%) utilisent de l'eau peptonée tamponnée (ou équivalent) pour la suspension mère.

40 laboratoires (12.0%) utilisent du tryptone sel pour la suspension mère.

5 laboratoires (1.5%) utilisent un diluant autre pour la suspension mère.

2.4. TECHNIQUES D'HOMOGENEISATION UTILISEES

Pour 332 réponses (99.7%) :

296 laboratoires (88.9%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.

28 laboratoires (8.4%) 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

320 laboratoires (96.1%) la précisent.

La durée moyenne est de **26.4 min** avec un écart-type de 15.6 min. Les valeurs 120 et 1440 min renseignées par 7 laboratoires n'ont pas été prises en compte dans ce calcul.

2.5.2. TEMPERATURE

320 laboratoires (96.1%) la précisent.

La température moyenne est de **21.6°C** avec un écart-type de 4.1°C.

2.6. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

318 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 4833-1	198
	AFNOR 3M-01/1-09/89	47
	NM ISO 4833-1	24
	ISO/NF EN ISO 4833-2	17
	AFNOR BIO-12/35-05/13	12
	Méthode interne	9
	XP V08-034	2
	Autres + V08-100 (spiral)	9 14
Milieu	Plate Count Agar	236
	Petrifilms	49
	Plate Count Agar + Lait	20
	Tempo AC	12
	Autres	1
Préparation	Sur place	107
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	141
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	69
Mode d'ensemencement	En surface	67
	Dans la masse	236
	Milieu de culture pour carte	12
1^{ère} dilution retenue	- 1	9
	- 2	14
	- 3	259
	- 4	24
	1/400	4
	1/4000	4
Température d'incubation	30°C	311
	32.5-35°C	4
	37°C	2
	25°C	1
Durée d'incubation	69-74 h	265
	40-48 h	49
	24-26 h	2
	144 h	1
	Autre	1

2.7. ENTEROBACTÉRIES

277 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-054	107
	→ <i>NM 08.0.109</i> ⁽¹⁾	17
	ISO/NF EN ISO 21528-2	63
	AFNOR 3M-01/6-09/97	44
	NM ISO 21528-2	12
	AFNOR BIO-12/21-12/06	10
	AFNOR AES-10/07-01/08	9
	AFNOR BRD-07/24-11/13	8
	Méthode interne	3
	Autres	4
Milieu	VRBG	203
	Petrifilms	45
	Tempo EB	10
	Rebecca	10
	Rapid'Enterobacteriaceae	8
	Autres	1
Préparation	Sur place	83
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	139
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	53
1^{ère} dilution retenue	- 1	148
	- 2	119
	- 3	1
	1/400	7
Température d'incubation	37°C	179
	30°C	86
	32.5-35°C	12
Durée d'incubation	22-27 h	270
	48 h	5
	72 h	1
	Autre	1
Test de confirmation	Oui	66
	Non	205

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

2.8. COLIFORMES TOTAUX

230 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-050	106
	→ <i>NM 08.0.142</i> ⁽²⁾	9
	ISO/NF ISO 4832	54
	NM ISO 4832	24
	AFNOR 3M	18
	AFNOR BIO-12/17-12/05	7
	AFNOR BRD-07/08-12/04	6
	Méthode interne	3
	Autres	3
Milieu	VRBL	193
	Petrifilms	20
	Rapid Ecoli	8
	Tempo TC	7
	Autres	2
Préparation	Sur place	80
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	124
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	25
1^{ère} dilution retenue	-1	154
	-2	71
	1/40	1
	1/400	3
Température d'incubation	30°C	209
	35-37°C	20
Durée d'incubation	20-26 h	226
	48 h	3

Méthode AFNOR 3M dont :

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

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

2.9. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

210 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-060	138
	→ NM 08.0.124 ⁽³⁾	29
	AFNOR 3M	23
	ISO/NF ISO 4832	15
	Méthode interne	3
	Autres	1
Milieu	VRBL	185
	Petrifilms	23
	Autres	2
Préparation	Sur place	78
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	111
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	21
1^{ère} dilution retenue	-1	151
	-2	57
Température d'incubation	42-45°C	205
	37°C	3
	30°C	1
Durée d'incubation	22-25 h	203
	44-48 h	5

Méthode AFNOR 3M dont :

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

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

2.10. ESCHERICHIA COLI

299 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 16649-2	171
	AFNOR 3M	40
	NM ISO 16649-2	22
	AFNOR BRD-07/01-07/93	18
	AFNOR BIO-12/13-02/05	12
	AFNOR AES-10/06-01/08	9
	NM 08.0.108	6
	Méthode interne	5
	AFNOR BIO-12/05-01/99	4
	ISO/NF EN ISO 16649-3	3
	Autres	9
Milieu	TBX	205
	Petrifilms	41
	Rapid E. coli	22
	Tempo EC	12
	Rebecca	11
	Coli ID	6
	Autres	2
Préparation	Sur place	86
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	163
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	49
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	39
	Dans la masse	241
	Milieu de culture pour carte	13
1^{ère} dilution retenue	-1	269
	-2	16
	1/40	2
	1/400	7
Température d'incubation	41-46°C	262
	36-37°C	32
	30-33°C	3
Durée d'incubation	18-27 h	291
	48 h	4
	30 h	1
	Autre	1

Méthode AFNOR 3M dont :

12 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.

2.11. ANAÉROBES SULFITO-RÉDUCTEURS

242 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-061	155
	→ NM 08.0.125 ⁽⁴⁾	17
	ISO/NF ISO 15213	45
	NM ISO 15213	14
	Méthode interne	8
	Autres	3
Milieu	TSC	226
	TSN	7
	Gélose sulfite de fer	7
	Autres	2
Préparation	Sur place	88
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	126
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	27
Mode d'ensemencement	Boîtes	161
	Tubes	78
1^{ère} dilution retenue	-1	162
	-2	76
	-3	1
Température d'incubation	44-48°C	173
	37°C	69
Durée d'incubation	18-24 h	197
	45-48 h	37
	72 h	7
	14 h	1

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

2.12. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

192 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 7937	151
	NM ISO 7937	29
	NM 08.0.111	3
	Méthode interne	2
	Autres	7
Milieu	TSC	191
	Autres	1
Préparation	Sur place	64
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	120
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	7
1^{ère} dilution retenue	-1	155
	-2	34
	-3	1
Température d'incubation	37°C	184
	44-46°C	7
Durée d'incubation	18-25 h	188
	48 h	3
Test de confirmation	Aucun	34
	Lactose-sulfite	144
	Galleries	7
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4

2.13. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

298 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2	139
	ISO/NF EN ISO 6888-1	68
	NM ISO 6888-1	22
	AFNOR BKR-23/10-12/15	21
	AFNOR 3M-01/9-04/03	12
	AFNOR BIO-12/28-04/10	11
	Méthode interne	5
	NM ISO 6888-2	4
	NM 08.0.112	4
	NordVal No :049	2
	ISO/NF EN ISO 6888-3	2
	Autres	7
	Milieu	RPF
BP+jaune d'œuf tellurite		90
Easy Staph		27
BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine		16
Petrifilm		13
Tempo STA		11
Rapid Staph		2
Autres		4
Préparation	Sur place	68
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	136
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	93
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	144
	Dans la masse	138
	Milieu de culture pour carte	11
1^{ère} dilution retenue	-1	105
	-2	170
	-3	12
	1/40	5
	1/400	2
Température d'incubation	37±1°C	294
	30-32.5°C	2
Durée d'incubation	42-48.5 h	199
	20-27 h	95
	72 h	1
	Autre	1
Test de confirmation	Aucun	189
	Staphylo-coagulase libre	78
	Coagulase liée	13
	DNase	8
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	2
	Autres	4

2.14. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

235 laboratoires réalisent le dénombrement.

REVIVIFICATION

85 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	69
	ISO/NF EN ISO 11290-2	56
	AFNOR BKR-23/05-12/07	50
	NM ISO 11290-2	24
	AFNOR BRD-07/05-09/01	23
	AFNOR BRD-07/17-01/09	9
	Méthode interne	2
	Autres	2
Diluant utilisé pour la suspension mère	Eau peptonée tamponnée ou équivalent	179
	Fraser 1/2	45
	Fraser base	5
	Autres	3
Milieu d'isolement	ALOA Count	111
	Compass Listeria	77
	Rapid Lmono	26
	AL Agar	15
	OCLA	3
	Palcam	1
	Autres	2
Préparation	Sur place	34
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	50
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	149
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	197
	Dans la masse	35

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1^{ère} dilution retenue	-1	217
	-2	14
Température d'incubation	36-37°C	233
	30°C	2
Durée d'incubation	44-48.5 h	194
	22-28 h	41
Test de confirmation	Aucun	47
	Biochimiques	129
	Biochimiques + CAMP	38
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Autres	5
Nb colonies testées	1	61
	2-3	13
	5	96
	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	AFNOR BKR 23/07-10/11 (IRIS Salmonella)	72
	ISO/NF EN ISO 6579-1	67
	NM ISO 6579-1	39
	AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)	30
	AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)	28
	AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)	23
	AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)	18
	AFNOR BIO 12/01-04/94 (VIDAS SLM)	6
	AFNOR UNI 03/07-11/13 (PCR)	3
	AFNOR BIO 12/38-06/16 (GENE UP Salmonella)	3
	AFNOR QUA 18/03-11/02 (BAX SYSTEM PCR)	2
	AFNOR BRD 07/06-07/04 (PCR)	1
	AFNOR TRA 02/08-03/01 (TRANSIA PLATE Salmonella GOLD)	1
	Méthode interne	2
Autres	10	

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 BRD 07/06-07/04 PCR		EPT / 37°C – 18/21h	Lyse + PCR
AFNOR BIO 12/38-06/16 GENE UP Salmonella		EPT / 42°C – 18/24h	Lyse + PCR
AFNOR QUA 18/03-11/02 BAX SYSTEM PCR		EPT / 37°C – 16/20h	Lyse + PCR
AFNOR TRA 02/08-03/01 TRANSIA PLATE Salmonella GOLD	EPT / 37°C - 16/20h	RVS / 41.5°C – 18/24h	Test ELISA

Le détail de la méthodologie suivie par les 106 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 et NM ISO 6579-1, ainsi que les 12 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	67
	NM ISO 6579-1	39
	Méthode interne	2
	Autres	10
Milieu pré-enrichissement	Aucun pré-enrichissement	3
	Eau peptonée tamponnée	110
	Autres	5
Température pré-enrichissement	36-37°C	106
	41-42.5°C	5
	20-22°C	3
	33°C	1
Durée pré-enrichissement	16-21 h	85
	22-25 h	29
	30 h	1
Milieus enrichissement	Aucun enrichissement	3
	RVS	106
	MKTTn	101
	Bouillon sélénite-cystine	28
	Autres	5
Milieus isolement	XLD	101
	Hektoen	28
	Sulfite de Bismuth	25
	IRIS Salmonella agar	13
	SS	13
	GVB	12
	ASAP	11
	Brilliance Salmonella	9
	Rapid Salmonella	7
	Compass Salmonella	6
	Rambach	2
Autres	3	
Test de confirmation	Biochimiques	43
	Biochimiques + agglutination	65
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	5
	Autres	1

2.16. LISTERIA MONOCYTOGENES – DETECTION

273 laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)	64
	AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)	63
	ISO/NF EN ISO 11290-1	47
	NM ISO 11290-1	26
	AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)	24
	AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)	12
	AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)	8
	AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)	5
	AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMO)	4
	AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria PreciS)	4
	AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)	3
	AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)	3
	AFNOR BRD 07/10-04/05 (IQ Check Listeria)	3
	AFNOR UNI 03/08-11/13 (PCR)	2
	Méthode interne	2
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 AES 10/03-09/00 ALOA one day	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			ALOA One Day 37°C – 24/48h
AFNOR BKR 23/02-11/02 Compass L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Compass Listeria Agar 37°C – 24h
AFNOR BRD 07/04-09/98 Rapid' L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Rapid L'mono 37°C – 24h
AFNOR BRD 07/16-01/09 Agar Listeria	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Agar Listeria 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/11-03/04 VIDAS LMO2 (37°C)	Fraser 1/2	30°C - 24/26h	Fraser	37°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR BIO 12/27-02/10 VIDAS LMX	LMX	37°C - 26/30h			ChromID 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/02-06/94 VIDAS Listeria	Fraser 1/2	37°C - 26/30h	Fraser	30°C - 24/26h	Palcam et Oxford 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/18-03/06 VIDAS LDUO	LX	30°C - 24±2h	LX	30°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR BRD 07/10-04/05 IQ Check Listeria	Fraser ½ - LSB	30°C – 23/25h			Lyse + PCR
AFNOR UNI 03/08-11/13 PCR	LEB	37°C – 24/28h			Lyse + PCR
AFNOR BIO 12/40-11/16 GENE UP LMO	LPT	35 - 37°C - 24±2h			ALOA 35 - 37°C – 24/48h
AFNOR UNI 03/04-04/05 Listeria PreciS	One Broth Listeria	30°C - 24±2h			Brilliance Listeria 37°C – 24h

Le détail de la méthodologie suivie par les 73 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 11290-1 et NM ISO 11290-1, 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 11290-1	47
	NM ISO 11290-1	26
	Méthode interne	2
	Autres	3
Milieu enrichissement I	Fraser demi	72
	One broth Listeria	1
	Autres	5
Température enrichissement I	30°C	73
	37°C	4
	22°C	1
Durée enrichissement I	23-26 h	76
	48 h	1
	12 h	1
Milieu enrichissement II	Aucun enrichissement II	5
	Fraser	70
	Autres	2
Température enrichissement II	37°C	71
	30°C	1
Durée enrichissement II	20-25 h	60
	48 h	12
Milieus isolement	Palcam	54
	Ottaviani et Agosti	38
	Compass Listeria	31
	Oxford	11
	Rapid L'mono	7
	Brilliance Listeria	3
	Autres	2
Température isolement	36-37°C	77
	30°C	1
Durée isolement	42-48 h	49
	24-25 h	29
Test de confirmation	Aucun	4
	Biochimiques	42
	Biochimiques + CAMP	28
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	2
Test de confirmation	1	25
Nb de colonies testées	2-3	7
	5	39

3. EVALUATION DE LA PERFORMANCE (RAPPORTS INDIVIDUELS)

3.1. PERFORMANCES EN DENOMBREMENT

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

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

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

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

FIDELITE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

JUSTESSE

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

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

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

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

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

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

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

RAPPORTS INDIVIDUELS - POUR CHAQUE CRITERE VOUS TROUVEZ LES INFORMATIONS SUIVANTES

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

3.1.1. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

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

Micro-organismes aérobies mésophiles	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	5.231
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0056
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0775
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0531
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.0737
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.0908

3.1.2. ENTEROBACTERIES

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

Entérobactéries	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.907	3.015	3.428
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0315	0.0402	0.0206
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2299	0.1874	0.1946
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0957		
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2259	0.1824	0.1898
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2060	0.2126	0.3065

3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

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

Coliformes totaux	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.925	3.186	3.488
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0297	0.0480	0.0304
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2945	0.1760	0.1438
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0991		
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2912	0.1703	0.1368
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.3065	0.1954	0.1670

3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

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

Coliformes thermotolérants	Groupe 1	Groupe 2
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.855	3.345
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0264	0.0303
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2476	0.1765
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1013	
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2434	0.1706
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2615	0.1956

3.1.5. *ESCHERICHIA COLI*

Un "effet" significatif 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)	2.655
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0152
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2028
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1418
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1926
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2392

3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

Seules les unités n°1, 2, 3 et 4 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 :

Anaérobies Sulfito-réducteurs	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.759
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0151
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1796
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.1029
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1721
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2005

Remarques :

- 8 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 10 à 5700 ufc/g.

3.1.7. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

Seules les unités n°1, 2, 3 et 4 étaient artificiellement contaminées.

Un "effet" significatif 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>Clostridium perfringens</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.739
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0183
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1941
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0860
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1892
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2078

Remarques :

- 3 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 1 à 750 ufc/g.

3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

Un "effet" significatif de la durée de revivification 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 :

Staphylocoques à coagulase positive	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.846
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0119
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1570
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0683
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1540
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1685

3.1.9. LISTERIA MONOCYTOGENES

Seules les unités n°1, 2, 3 et 4 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)	2.844
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0087
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1035
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0767
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.0961
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1230

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°2, 3 et 4 étaient artificiellement contaminées.

292 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

8 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 3 et 6 faux-positifs pour les unités n°1 et 5).

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

3.2.2. DETECTION – LISTERIA MONOCYTOGENES

Seules les unités n°1, 2, 3 et 4 étaient artificiellement contaminées.

268 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

1 laboratoire a obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 1 faux-positif pour l'unité n°5).

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

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 55^{ème} campagne.

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

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