

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »



CAMPAGNE RAEMA POUDRE N° 79 (1er OCTOBRE 2024) RAPPORT GENERAL

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

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

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

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

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

Table des matières

1- CONSIDERATIONS GENERALES	3
1-1 LABORATOIRES PARTICIPANTS	3
1-2 DELAI D'ACHEMINEMENT DES COLIS	3
1-3 RENSEIGNEMENTS CONCERNANT L'ECHANTILLON.....	3
1-3-1 NATURE	3
1-3-2 TAILLE.....	3
1-3-3 CONTROLE DE L'HOMOGENEITE ET DE LA STABILITE DES ECHANTILLONS	3
1-3-4 FLORES A DENOMBRER ET A DETECTER	3
1-4 MISE EN ŒUVRE DES ANALYSES	4
1-4-1 DELAI ENVOI DES ECHANTILLONS / DEBUT DES MANIPULATIONS	4
1-4-2 TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE.....	4
2- EXPLOITATION DES COMPTES RENDUS D'ANALYSE.....	4
2-1 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	24
3-2 PERFORMANCES EN DETECTION	24
3-2-1 DETECTION – SALMONELLA	24
3-2-2 DETECTION - LISTERIA MONOCYTOGENES.....	24
3-3 EVOLUTION DE LA PERFORMANCE.....	24

1. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

1.1. LABORATOIRES PARTICIPANTS

338 laboratoires ont participé à la 79^{ème} campagne. Cet envoi a été effectué le mardi 1^{er} octobre 2024. **335 réponses** (99.1%) 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+13	J0+14	J0+20
Nb laboratoires	12	211	46	26	1	1	10	8	7	1	5	1	3	3

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 2.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Serratia liquefaciens* à une concentration d'environ 2.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 2.10^3 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ 1.10^3 ufc/g dans 2 unités ;
- une souche de *Staphylococcus aureus* à une concentration d'environ 3.10^3 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 $1,5.10^3$ ufc/g dans 4 unités.

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

1.3.2. TAILLE

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

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

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

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

La stabilité de la contamination a également été contrôlée par dénombrement / détection de toutes les flores les 7, 14 et 21 octobre 2024. 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

335 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+13	J0+14	J0+15	J0+20	J0+21
Nb de laboratoires	1	39	36	14	1	141	57	16	6	2	16	1	2	2	1

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

334 laboratoires (99.7%) la précisent. La température moyenne est de **4.0°C** avec un écart-type de 1.4°C. Les valeurs 20, 21, 22, 25, 29 et 30°C renseignées par 11 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

333 laboratoires la précisent (99.4%).

La taille moyenne est de **17.7 g** avec un écart-type de 8.1 g. La taille minimale renseignée est 1 g et la taille maximale 100 g (non prise en compte dans ce calcul).

2.2. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour **334** réponses (99.7%) :

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

125 laboratoires (37.3%) préparent la suspension mère en ajoutant la poudre au diluant.

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

2.3. DILUANT UTILISE POUR LA SUSPENSION MERE

Pour **330** réponses (98.5%) :

290 laboratoires (86.6%) utilisent de l'eau peptonée tamponnée (ou équivalent) pour la suspension mère.

35 laboratoires (10.4%) 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 **333** réponses (99.4%) :

296 laboratoires (88.3%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.

27 laboratoires (8.1%) utilisent une homogénéisation manuelle.

7 laboratoires (2.1%) utilisent un agitateur type Vortex.

3 laboratoires (0.9%) utilisent une technique autre.

2.5. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

2.5.1. DUREE

317 laboratoires (94.6%) la précisent.

La durée moyenne est de **26.6 min** avec un écart-type de 15.1 min. La valeur 120 min renseignée par 1 laboratoire n'a pas été prise en compte dans ce calcul.

2.5.2. TEMPERATURE

317 laboratoires (94.6%) la précisent.

La température moyenne est de **21.6°C** avec un écart-type de 3.3°C.

2.6. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

316 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 4833-1 (+A1)	189
	AFNOR 3M-01/1-09/89	42
	NM ISO 4833-1	28
	ISO/NF EN ISO 4833-2 (+A1)	16
	AFNOR BIO-12/35-05/13	14
	Méthode interne	9
	XP V08-034	9
	Autres + Méthode spirale	23
Milieu	Plate Count Agar	226
	Neogen® Petrifilms®	46
	Plate Count Agar + Lait	26
	Tempo AC	14
	Autres	3
Préparation	Sur place	110
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	128
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	76
Mode d'ensemencement	En surface	66
	Dans la masse	230
	Transfert Tempo filler®	14
1^{ère} dilution retenue	- 1	10
	- 2	15
	- 3	254
	- 4	18
	- 5	2
	- 6	2
	1/400	6
	1/4000	6
Température d'incubation	30°C	311
	33-35°C	2
	37°C	2
	25°C	1
Durée d'incubation	69-72 h	262
	40-48 h	50
	24-26 h	2
	120 h	2

2.7. ENTEROBACTÉRIES

280 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-054	107
	→ <i>NM 08.0.109</i> ⁽¹⁾	18
	ISO/NF EN ISO 21528-2	67
	AFNOR 3M-01/6-09/97	42
	NM ISO 21528-2	12
	AFNOR BIO-12/21-12/06	12
	AFNOR AES-10/07-01/08	7
	AFNOR BRD-07/24-11/13	7
	Méthode interne	5
	Autres	2
Milieu	VRBG	204
	Neogen® Petrifilms®	45
	Tempo EB	12
	Rebecca	8
	Rapid'Enterobacteriaceae	8
	Autres	1
Préparation	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	129
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	60
1^{ère} dilution retenue	- 1	87
	- 2	177
	- 3	4
	1/40	1
	1/400	9
Température d'incubation	37°C	181
	30-32°C	85
	35°C	14
Durée d'incubation	22-24 h	274
	48 h	6
Test de confirmation	Oui	69
	Non	207

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

2.8. COLIFORMES TOTAUX

218 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-050	104
	→ <i>NM 08.0.142</i> ⁽²⁾	9
	ISO/NF ISO 4832	51
	NM ISO 4832	22
	AFNOR 3M	16
	AFNOR BIO-12/17-12/05	5
	AFNOR BRD-07/08-12/04	3
	Méthode interne	3
	Autres	3
Milieu	VRBL	187
	Neogen® Petrifilms®	17
	Rapid Ecoli 2	5
	Tempo TC	5
	Autres	3
Préparation	Sur place	89
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	106
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	22
1^{ère} dilution retenue	-1	81
	-2	128
	-3	1
	1/40	3
	1/400	2
Température d'incubation	30°C	203
	35-37°C	14
Durée d'incubation	21-25 h	213
	48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

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

2 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

199 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-060	133
	→ NM 08.0.124 ⁽³⁾	30
	AFNOR 3M	19
	ISO/NF ISO 4832	12
	Autres	3
Milieu	VRBL	174
	Neogen® Petrifilms®	19
	Autres	5
Préparation	Sur place	83
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	95
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	18
1^{ère} dilution retenue	-1	74
	-2	122
	-3	1
Température d'incubation	42-44.5°C	195
	37°C	4
Durée d'incubation	22-24 h	196
	48 h	3

Méthode AFNOR 3M dont :

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

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

2.10. ESCHERICHIA COLI

292 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 16649-2	170
	AFNOR 3M	40
	NM ISO 16649-2	27
	AFNOR BRD-07/01-07/93	14
	AFNOR BIO-12/13-02/05	14
	AFNOR AES-10/06-01/08	6
	Méthode interne	6
	NM 08.0.108	4
	AFNOR BIO-12/05-01/99	3
	AFNOR BRD-07/07-12/04	3
	ISO/NF EN ISO 16649-3	2
	Autres	2
	Milieu	TBX
Neogen® Petrifilms®		41
Rapid E. coli 2		18
Tempo EC		14
Rebecca		7
Coli ID		5
Glutamate+TBX		1
Autres		2
Préparation	Sur place	89
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	145
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	57
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	42
	Dans la masse	233
	Transfert Tempo filler®	14
1^{ère} dilution retenue	-1	98
	-2	177
	-3	3
	1/40	5
	1/400	6
Température d'incubation	40-46°C	263
	37°C	27
	30°C	1
Durée d'incubation	18-25 h	288
	48 h	3

2.11. ANAÉROBES SULFITO-RÉDUCTEURS

221 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-061	142
	→ NM 08.0.125 ⁽⁴⁾	17
	ISO/NF ISO 15213-1	37
	NM ISO 15213	7
	Méthode interne	6
	Autres	9
Milieu	TSC	194
	Gélose sulfite de fer	17
	TSN	4
	Autres	5
Préparation	Sur place	78
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	121
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	21
Mode d'ensemencement	Boîtes	150
	Tubes	68
1^{ère} dilution retenue	-1	107
	-2	106
	-3	4
	-4	1
Température d'incubation	44-46°C	160
	37°C	60
Durée d'incubation	16-24 h	178
	46-48 h	37
	72 h	5

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

2.12. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

190 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 15213-2	81
	ISO/NF EN ISO 7937	76
	NM ISO 7937	14
	NM 08.0.111	3
	Méthode interne	2
	Autres	12
Milieu	TSC	189
Préparation	Sur place	60
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	127
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	2
1^{ère} dilution retenue	-1	95
	-2	92
	-3	1
Température d'incubation	37-37.5°C	185
	44-46°C	5
Durée d'incubation	18-24 h	186
	48 h	4
Test de confirmation	Aucun	31
	Lactose-sulfite	70
	Gélose SIM	63
	Phosphatase acide	10
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Galleries	2
	Autres	1

2.13. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

290 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2 (+A1)	137
	ISO/NF EN ISO 6888-1 (+A1)	62
	NM ISO 6888-1	22
	AFNOR BKR-23/10-12/15	21
	AFNOR BIO-12/28-04/10	15
	AFNOR 3M-01/9-04/03	11
	Méthode interne	6
	NM ISO 6888-2	4
	NM 08.0.112	3
	ISO/NF EN ISO 6888-3	2
	NordVal No :049	1
	Autres	3
	Milieu	RPF
BP+jaune d'œuf tellurite		87
Easy Staph		27
Tempo STA		15
Neogen® Petrifilm®		12
BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine		12
Rapid Staph		4
Autres		4
Préparation	Sur place	77
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	120
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	91
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	140
	Dans la masse	131
	Transfert Tempo filler®	14
1^{ère} dilution retenue	-1	120
	-2	151
	-3	4
	1/40	7
	1/400	5
Température d'incubation	35-37°C	285
	30-32.5°C	3
Durée d'incubation	42-48 h	201
	18-25 h	85
	32-34 h	2
Test de confirmation	Aucun	182
	Staphylo-coagulase libre	68
	Coagulase liée	18
	DNase	8
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	3
	Autres	2

2.14. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

238 laboratoires réalisent le dénombrement.

REVIVIFICATION

74 laboratoires déclarent réaliser une étape de revivification.

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

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	AFNOR AES-10/05-09/06	63
	AFNOR BKR-23/05-12/07	63
	ISO/NF EN ISO 11290-2	54
	NM ISO 11290-2	23
	AFNOR BRD-07/05-09/01	23
	AFNOR BRD-07/17-01/09	9
	Autres	2
Diluant utilisé pour la suspension mère	Eau peptonée tamponnée ou équivalent	194
	Fraser 1/2	40
	Fraser base	2
	Autres	1
Milieu d'isolement	ALOA Count	105
	Compass Listeria	89
	Rapid Lmono	23
	AL Agar	14
	Palcam	3
	OCLA	2
	Autres	2
Préparation	Sur place	39
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	49
	Prêt à l'emploi en boîtes, films, cartes	149
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	189
	Dans la masse	44

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1^{ère} dilution retenue	-1	173
	-2	61
	-4	1
Température d'incubation	36-37.2°C	236
	30°C	2
Durée d'incubation	42-48 h	201
	22-24 h	37
Test de confirmation	Aucun	50
	Biochimiques	139
	Biochimiques + CAMP	32
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	7
	Autres	4
Nb colonies testées	1	58
	2-3	11
	5	108
	10	1
	300	1

2.15. SALMONELLA – DETECTION

300 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 (+A1)	72
	AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)	35
	NM ISO 6579-1	32
	AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)	23
	AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)	22
	AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)	13
	AFNOR BIO 12/01-04/94 (VIDAS SLM)	7
	AFNOR UNI 03/06-12/07 (Salmonella precis)	3
	AFNOR UNI 03/07-11/13 (PCR)	3
	AFNOR BIO 12/38-06/16 (GENE UP Salmonella)	3
	AFNOR BRD 07/06-07/04 (PCR)	3
	Méthode interne	2
	Autres	6

Vous trouverez, ci-dessous, un bref descriptif des méthodes proposées dans le questionnaire (hors ISO/NF EN ISO 6579-1 (+A1), 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 + RAPID Salmonella supplément / 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
AFNOR BIO 12/32-10/11 VIDAS SPT		EPT + Salmonella supplément / 41,5°C - 18/24h	Chrom ID / 37°C - 24h
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 03/06-12/07 Salmonella precis		ONE broth-Salmonella / 42°C – 16/24h	Brilliance Salmonella / 37°C - 24±2h
AFNOR UNI 03/07-11/13 PCR		EPT + supplément / 34-38°C – 20/24h	Lyse + PCR
AFNOR BIO 12/38-06/16 GENE UP Salmonella		EPT / 42°C – 18/24h	Lyse + PCR
AFNOR BRD 07/06-07/04 PCR		EPT / 37°C – 18/21h	Lyse + PCR
AFNOR TRA 02/08-03/01 TRANSIA PLATE Salmonella GOLD	EPT / 37°C - 16/20h	RVS / 41.5°C – 18/24h	Test ELISA
AFNOR QUA 18/03-11/02 BAX SYSTEM PCR		EPT / 37°C – 16/20h	Lyse + PCR

Le détail de la méthodologie suivie par les 104 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 (+A1) et NM ISO 6579-1, ainsi que les 8 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 (+A1)	72
	NM ISO 6579-1	32
	Méthode interne	2
	Autres	6
Milieu pré-enrichissement	Aucun pré-enrichissement	1
	Eau peptonée tamponnée	109
	Autres	2
Température pré-enrichissement	35-37°C	109
	41-42.5°C	2
	22°C	1
Durée pré-enrichissement	16-20 h	82
	22-24 h	29
Milieus enrichissement	Aucun enrichissement	3
	RVS	105
	MKTTn	98
	Bouillon sélénite-cystine	25
	Autres	4
Milieus isolement	XLD	100
	Hektoen	31
	Sulfite de Bismuth	26
	GVB	13
	IRIS Salmonella agar	12
	ASAP	10
	SS	10
	Rapid Salmonella	7
	Compass Salmonella	3
	Brilliance Salmonella	3
	Rambach	2
Autres	11	
Test de confirmation	Biochimiques	37
	Biochimiques + agglutination	64
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	6
	Autres	4

2.16. LISTERIA MONOCYTOGENES – DETECTION

274 laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)	66
	AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)	57
	ISO/NF EN ISO 11290-1	45
	NM ISO 11290-1	28
	AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)	23
	AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)	10
	AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)	8
	AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)	7
	AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)	6
	AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMO)	6
	AFNOR BRD 07/10-04/05 (IQ Check Listeria)	5
	AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria Precis)	4
	AFNOR UNI 03/08-11/13 (PCR)	3
	Méthode interne	3
	AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)	1
Autres	2	

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

Méthode	Enrichissement primaire		Enrichissement secondaire		Isolement
	Milieu	Incubation	Milieu	Incubation	
AFNOR BKR 23/02-11/02 Compass L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Compass Listeria Agar 37°C – 24h
AFNOR AES 10/03-09/00 ALOA one day	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			ALOA One Day 37°C – 24/48h
AFNOR BRD 07/04-09/98 Rapid' L. mono	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Rapid L'mono 37°C – 24h
AFNOR BRD 07/16-01/09 Agar Listeria	Fraser 1/2	30°C - 24±2h			Agar Listeria 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/11-03/04 VIDAS LMO2 (37°C)	Fraser 1/2	30°C - 24/26h	Fraser	37°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR BIO 12/27-02/10 VIDAS LMX	LMX	37°C - 26/30h			ChromID 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/02-06/94 VIDAS Listeria	Fraser 1/2	37°C - 26/30h	Fraser	30°C - 24/26h	Palcam et Oxford 37°C – 24h
AFNOR BIO 12/40-11/16 GENE UP LMO	LPT	35 - 37°C - 24±2h			ALOA 35 - 37°C – 24/48h
AFNOR BRD 07/10-04/05 IQ Check Listeria	Fraser ½ - LSB	30°C – 23/25h			Lyse + PCR
AFNOR UNI 03/04-04/05 Listeria Precis	One Broth Listeria	30°C - 24±2h			Brilliance Listeria 37°C – 24h
AFNOR UNI 03/08-11/13 PCR	LEB	37°C – 24/28h			Lyse + PCR
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 72 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	44
	NM ISO 11290-1	28
	Méthode interne	3
	Autres	2
Milieu enrichissement I	Aucun enrichissement I	1
	Fraser demi	72
	Autres	4
Température enrichissement I	30-32°C	74
	35-37°C	3
Durée enrichissement I	21-26 h	75
	48 h	1
	35 h	1
Milieu enrichissement II	Aucun enrichissement II	5
	Fraser	71
Température enrichissement II	37±1°C	68
	30°C	5
Durée enrichissement II	20-25 h	62
	48 h	11
Milieus isolement	Palcam	51
	Ottaviani et Agosti	33
	Compass Listeria	32
	Oxford	15
	Rapid L'mono	3
	Brilliance Listeria	2
	Autres	4
Température isolement	35-37°C	73
	30°C	1
Durée isolement	46-48 h	47
	22-24 h	27
Test de confirmation	Aucun	3
	Biochimiques	48
	Biochimiques + CAMP	22
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	1
	Autres	1
Test de confirmation Nb de colonies testées	1	15
	2-3	5
	5	42
	10	1

3. EVALUATION DE LA PERFORMANCE (RAPPORTS INDIVIDUELS)

3.1. PERFORMANCES EN DENOMBREMENT

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

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

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

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

FIDELITE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

JUSTESSE

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

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

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

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

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

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

l'évaluation de l'aptitude (estimation robuste de l'écart-type des moyennes obtenues par les laboratoires). Les valeurs des scores z vous sont proposées avec 3 chiffres significatifs.

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

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

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

RAPPORTS INDIVIDUELS - POUR CHAQUE CRITERE VOUS TROUVEZ LES INFORMATIONS SUIVANTES

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

3.1.1. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

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

Micro-organismes aérobies mésophiles	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	5.044
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0059
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0780
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0545
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0741
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.0920

3.1.2. ENTEROBACTERIES

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

Entérobactéries	Groupe 1 (52 laboratoires)	Groupe 2 (72 laboratoires)	Groupe 3 (156 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.083	3.416	3.542
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0574	0.0209	0.0141
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2557	0.1348	0.1375
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0744		
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2535	0.1306	0.1334
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2642	0.1503	0.1527

3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

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

Coliformes totaux	Groupe 1 (31 laboratoires)	Groupe 2 (143 laboratoires)	Groupe 3 (44 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.045	3.378	3.568
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0582	0.0198	0.0190
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2031	0.1775	0.0997
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0727		
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.2005	0.1745	0.0943
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2138	0.1897	0.1201

3.1.4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

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

Coliformes thermotolérants	Groupe 1 (49 laboratoires)	Groupe 2 (150 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.078	3.441
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0505	0.0165
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2101	0.1583
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0728	
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.2075	0.1549
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2205	0.1719

3.1.5. ESCHERICHIA COLI

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

Escherichia coli	Groupe 1 (51 laboratoires)	Groupe 2 (241 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.008	3.464
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0596	0.0117
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.2611	0.1408
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0745	
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.2590	0.1368
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2695	0.1557

3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

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

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

Anaérobies Sulfito-réducteurs	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.079
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0171
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1882
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0859
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1782
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1978

Remarque :

- 4 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 8 à 1000 ufc/g.
- 7 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°2 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 14 à 1500 ufc/g.
- 9 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 11 à 3500 ufc/g.

3.1.7. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

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

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

<i>Clostridium perfringens</i>	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.098
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0152
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1558
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0908
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1420
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1685

Remarque :

- 1 laboratoire a détecté *C. perfringens* dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination de 20 ufc/g.
- 3 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°5 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 800 à 1800 ufc/g.

3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

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

Staphylocoques à coagulase positive	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.513
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0116
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1475
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0756
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1435
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1622

3.1.9. LISTERIA MONOCYTOGENES

Seules les unités n°1, 3, 4 et 5 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 :

Listeria monocytogenes	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.241
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0081
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0945
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0696
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0878
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1121

3.2. PERFORMANCES EN DETECTION

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

3.2.1. DETECTION – SALMONELLA

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

278 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

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

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

3.2.2. DETECTION – LISTERIA MONOCYTOGENES

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

265 laboratoires ont obtenu des résultats justes.

2 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 1 l'unité n°2).

4 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 3, 3 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 59^{ème} campagne.

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

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