ACCREDITATION
N°1-1836
PORTEE DISPONIBLE
SUR WWW.COFRAC.FR

COMPARAISON INTERLABORATOIRES « RAEMA »

réseau d'analyses et d'échanges en microbiologie des aliments

CAMPAGNE RAEMA POUDRE N° 80

(11 MARS 2025)

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

329 laboratoires ont participé à la 80ème campagne. Cet envoi a été effectué le mardi 11 mars 2025.
325 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+15	J0+16
Nb laboratoires	10	197	34	43	2	1	10	10	7	4	2	4	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 6.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche d'*Escherichia coli* à une concentration d'environ 4.10^2 ufc/g dans les 5 unités ;
- une souche de *Clostridium perfringens* à une concentration d'environ 2.10^3 ufc/g dans 3 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 2 unités ;
- une souche de *Listeria monocytogenes* à une concentration d'environ 1.10^3 ufc/g dans 4 unités.

Les échantillons ont été préparés entre janvier et mars 2025. La maintenance des souches bactériennes et le contrôle de leur contamination sont confiés à un prestataire externe.

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 17, 24 et 31 mars 2025. Ces contrôles ont été réalisés par un laboratoire prestataire externe 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

325 laboratoires (100%) le précisent.

Délai d'analyse	J0	J0+1	J0+2	J0+3	J0+4	J0+5	J0+6	J0+7	J0+8	J0+9	J0+10	J0+13	J0+14	J0+15	J0+16
Nb de laboratoires	1	34	34	18	7	1	123	55	22	6	4	14	1	3	2

1.4.2. TEMPERATURE DE CONSERVATION DES ECHANTILLONS AVANT ANALYSE

325 laboratoires (100%) la précisent. La température moyenne est de **4.1°C** avec un écart-type de 1.1°C. Les valeurs 20, 20.3, 21, 22, 22.1 et 25°C renseignées par 8 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

323 laboratoires la précisent (99.4%).
La taille moyenne est de **17.4 g** avec un écart-type de 7.9 g. La taille minimale renseignée est 1 g et la taille maximale 30 g.

2.2. PREPARATION DE LA SUSPENSION MERE

Pour **324** réponses (99.7%) :
210 laboratoires (64.6%) préparent la suspension mère en ajoutant le diluant à la poudre.
113 laboratoires (34.8%) 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 **320** réponses (98.5%) :
280 laboratoires (86.1%) utilisent de l'eau peptonée tamponnée (ou équivalent) pour la suspension mère.
32 laboratoires (9.9%) utilisent du tryptone sel pour la suspension mère.
8 laboratoires (2.5%) utilisent un diluant autre pour la suspension mère.

2.4. TECHNIQUES D'HOMOGÉNÉISATION UTILISÉES

Pour **323** réponses (99.4%) :
291 laboratoires (89.5%) homogénéisent leur prélèvement avec un StomacherND.
21 laboratoires (6.5%) utilisent une homogénéisation manuelle.
9 laboratoires (2.8%) utilisent un agitateur type Vortex.
2 laboratoires (0.6%) utilisent une technique autre.

2.5. CONDITIONS DE REVIVIFICATION

2.5.1. DUREE

312 laboratoires (96.0%) la précisent.
La durée moyenne est de **26.1 min** avec un écart-type de 15.8 min. La valeur 180 min renseignée par 2 laboratoires n'a pas été prise en compte dans ce calcul.

2.5.2. TEMPERATURE

311 laboratoires (95.7%) la précisent.
La température moyenne est de **21.4°C** avec un écart-type de 3.6°C.

2.6. MICRO-ORGANISMES AEROBIES MESOPHILES

313 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 4833-1 (+A1)	197
	AFNOR 3M-01/1-09/89	40
	NM ISO 4833-1	30
	ISO/NF EN ISO 4833-2 (+A1)	15
	Méthode interne	9
	AFNOR BIO-12/35-05/13	8
	XP V08-034	6
	Autres	8
	+ Méthode spirale	20
Milieu	Plate Count Agar	236
	Neogen® Petrifilms®	41
	Plate Count Agar + Lait	24
	Tempo AC	8
	Autres	4
Préparation	Sur place	108
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	137
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	66
Mode d'ensemencement	En surface	60
	Dans la masse	238
	Transfert Tempo filler®	8
1ère dilution retenue	- 1	12
	- 2	14
	- 3	267
	- 4	11
	- 5	2
	1/400	5
Température d'incubation	30°C	306
	32-33°C	3
	37°C	4
Durée d'incubation	69-73 h	269
	40-48 h	41
	24-26 h	2
	120 h	1

2.7. ENTEROBACTÉRIES

284 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-054	102
	→ *NM 08.0.109*(1)	15
	ISO/NF EN ISO 21528-2	84
	AFNOR 3M-01/6-09/97	41
	NM ISO 21528-2	21
	AFNOR BRD-07/24-11/13	8
	AFNOR AES-10/07-01/08	5
	AFNOR BIO-12/21-12/06	4
	Méthode interne	4
	Autres	0
Milieu	VRBG	218
	Neogen® Petrifilms®	44
	Rapid'Enterobacteriaceae	10
	Rebecca	7
	Tempo EB	4
	Autres	1
Préparation	Sur place	89
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	146
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	48
1ère dilution retenue	- 1	211
	- 2	69
	- 3	1
	1/400	1
Température d'incubation	37-37,5°C	194
	30-32°C	86
	35°C	4
Durée d'incubation	21-25 h	281
	48 h	3
Test de confirmation	Oui	87
	Non	188

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

2.8. COLIFORMES TOTAUX

217 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-050	101
	→ *NM 08.0.142*(2)	8
	ISO/NF ISO 4832	59
	NM ISO 4832	26
	AFNOR 3M	12
	Méthode interne	4
	AFNOR BRD-07/08-12/04	3
	AFNOR BIO-12/17-12/05	2
	Autres	2
Milieu	VRBL	195
	Neogen® Petrifilms®	13
	Rapid Ecoli 2	6
	Tempo TC	2
	Autres	1
Préparation	Sur place	89
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	112
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	15
1ère dilution retenue	-1	201
	-2	14
Température d'incubation	30-32°C	203
	37°C	13
	44°C	1
Durée d'incubation	21-24 h	213
	48 h	4

Méthode AFNOR 3M dont :

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-01/02-09/89 A.

1 laboratoire a précisé avoir utilisé la méthode AFNOR 3M-CC à 30°C.

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

2.9. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

193 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-060	130
	→ *NM 08.0.124*(3)	33
	AFNOR 3M	16
	ISO/NF ISO 4832	10
	Méthode interne	2
	Autres	2
Milieu	VRBL	173
	Neogen® Petrifilms®	16
	Autres	4
Préparation	Sur place	85
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	92
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	16
1ère dilution retenue	-1	177
	-2	15
Température d'incubation	42-44.5°C	190
	37°C	2
	30°C	1
Durée d'incubation	22-24 h	191
	48 h	2

Méthode AFNOR 3M dont :

2 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-haute sensibilité.

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

2.10. ESCHERICHIA COLI

289 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 16649-2	173
	AFNOR 3M	39
	NM ISO 16649-2	30
	AFNOR BRD-07/01-07/93	16
	AFNOR BIO-12/13-02/05	8
	NM 08.0.108	5
	Méthode interne	4
	AFNOR AES-10/06-01/08	3
	AFNOR BIO-12/05-01/99	3
	AFNOR BRD-07/07-12/04	3
	ISO/NF EN ISO 16649-3	1
	Autres	3
Milieu	TBX	207
	Neogen® Petrifilms®	40
	Rapid E. coli 2	21
	Tempo EC	8
	Rebecca	6
	Coli ID	5
	Autres	1
Préparation	Sur place	90
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	149
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	48
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	42
	Dans la masse	235
	Transfert Tempo filler®	8
1ère dilution retenue	-1	273
	-2	9
	-3	1
	1/400	4
Température d'incubation	40-48°C	265
	37°C	22
	30°C	1
Durée d'incubation	18-25 h	282
	48 h	4
	72 h	1
	Autre	1

2.11. ANAÉROBIES SULFITO-RÉDUCTEURS

230 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	NF V08-061	141
	→ *NM 08.0.125*[4]	19
	ISO/NF ISO 15213-1	44
	NM ISO 15213-1	13
	Méthode interne	7
	Autres	5
Milieu	TSC	196
	Gélose sulfite de fer	27
	TSN	6
Préparation	Sur place	86
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	123
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	21
Mode d'ensemencement	Boîtes	163
	Tubes	67
1ère dilution retenue	-1	65
	-2	148
	-3	15
Température d'incubation	44-49°C	167
	37°C	63
Durée d'incubation	16-24 h	185
	46-48 h	41
	72 h	4

[4] *Méthode similaire à NF V08-061 selon l'ONSSA.*

2.12. CLOSTRIDIUM PERFRINGENS

198 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF ISO 15213-2	94
	ISO/NF EN ISO 7937	62
	NM ISO 15213-2	24
	NM ISO 7937	9
	Méthode interne	1
	Autres	8
Milieu	TSC	195
	Autre	3
Préparation	Sur place	68
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	123
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	6
1ère dilution retenue	-1	61
	-2	137
Température d'incubation	36-37.5°C	191
	44-46°C	7
Durée d'incubation	17-24 h	190
	48 h	8
Test de confirmation	Aucun	29
	Gélose SIM	83
	Lactose-sulfite	59
	Phosphatase acide	8
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Galeries	2
	Autres	3

2.13. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

288 laboratoires réalisent le dénombrement.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 6888-2 (+A1)	127
	ISO/NF EN ISO 6888-1 (+A1)	73
	AFNOR BKR-23/10-12/15	27
	NM ISO 6888-1	25
	AFNOR 3M-01/09-04/03	10
	Méthode interne	6
	AFNOR BIO-12/28-04/10	5
	NM ISO 6888-2	4
	NM 08.0.112	3
	ISO/NF EN ISO 6888-3	3
	NordVal No :049	2
	Autres	3
Milieu	RPF	122
	BP+jaune d'œuf tellurite	98
	Easy Staph	31
	BP+jaune d'œuf tellurite + sulfaméthazine	12
	Neogen® Petrifilm®	11
	Tempo STA	5
	Rapid Staph	5
	Autres	4
Préparation	Sur place	81
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	120
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	87
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	154
	Dans la masse	123
	Transfert Tempo filler®	5
1ère dilution retenue	-1	121
	-2	161
	-3	3
	1/400	1
Température d'incubation	35-37,5°C	287
	30°C	1
Durée d'incubation	42-48,5 h	204
	20-25 h	83
	32 h	1
Test de confirmation	Aucun	172
	Staphylo-coagulase libre	87
	Coagulase liée	15
	DNase	6
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	4
	Autres	3

2.14. LISTERIA MONOCYTOGENES – DÉNOMBREMENT

235 laboratoires réalisent le dénombrement.

REVIVIFICATION

68 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	ISO/NF EN ISO 11290-2	70
	AFNOR BKR-23/05-12/07	54
	AFNOR AES-10/05-09/06	52
	NM ISO 11290-2	27
	AFNOR BRD-07/05-09/01	21
	AFNOR BRD-07/17-01/09	8
	Méthode interne	1
	Autres	2
Diluant utilisé pour la suspension mère	Eau peptonée tamponnée ou équivalent	200
	Fraser 1/2	30
	Fraser base	2
	Autres	3
Milieu d'isolement	ALOA Count	106
	Compass Listeria	82
	Rapid Lmono	22
	AL Agar	15
	Palcam	4
	OCLA	2
	Autres	3
Préparation	Sur place	50
	Prêt à l'emploi non pré-coulé	43
	Prêt à l'emploi en boites, films, cartes	141
Mode d'ensemencement	En surface (gélose, film)	195
	Dans la masse	39

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
1ère dilution retenue	-1	199
	-2	32
Température d'incubation	37-37.5°C	231
	30°C	4
Durée d'incubation	44-48 h	199
	24 h	35
	34 h	1
Test de confirmation	Aucun	44
	Biochimiques	139
	Biochimiques + CAMP	31
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	10
	Autres	4
Nb colonies testées	1	52
	2-3	10
	5	115
	15	1
	150	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	ISO/NF EN ISO 6579-1 (+A1)	86
	AFNOR BKR 23/07-10/11 (IRIS Salmonella)	66
	NM ISO 6579-1	38
	AFNOR BRD 07/11-12/05 (Rapid Salmonella)	33
	AFNOR BIO 12/41-03/17 (SALMA One day)	18
	AFNOR BIO 12/32-10/11 (VIDAS SPT)	18
	AFNOR BIO 12/16-09/05 (VIDAS Easy Salmonella)	10
	AFNOR BIO 12/01-04/94 (VIDAS SLM)	9
	AFNOR UNI 03/06-12/07 (Salmonella precis)	4
	AFNOR BIO 12/38-06/16 (GENE UP Salmonella)	4
	AFNOR BRD 07/06-07/04 (PCR)	4
	AFNOR UNI 03/07-11/13 (PCR)	3
	Méthode interne	2
	TRANSIA PLATE Salmonella GOLD	1
	Autres	4

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 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 UNI 03/07-11/13 **PCR**		EPT + supplément / 34-38°C – 20/24h	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 124 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 6579-1 (+A1) et NM ISO 6579-1, ainsi que les 6 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)	86
	NM ISO 6579-1	38
	Méthode interne	2
	Autres	4
Milieu pré-enrichissement	Aucun pré-enrichissement	2
	Eau peptonée tamponnée	123
	Autres	4
Température pré-enrichissement	35-37°C	122
	41-42.5°C	4
	22°C	2
Durée pré-enrichissement	16-20 h	90
	22-25 h	38
Milieux enrichissement	Aucun enrichissement	3
	RVS	121
	MKTTn	115
	Bouillon sélénite-cystine	28
	Autres	4
Milieux isolement	XLD	117
	Hektoen	35
	Sulfite de Bismuth	30
	GVB	19
	IRIS Salmonella agar	15
	ASAP	13
	SS	10
	Rapid Salmonella	9
	Compass Salmonella	4
	Rambach	3
	Brilliance Salmonella	2
	Autres	10
Test de confirmation	Biochimiques	38
	Biochimiques + agglutination	78
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	7
	Autres	2

2.16. LISTERIA MONOCYTOGENES – DETECTION

271 laboratoires effectuent la recherche.

Paramètres	Modalités	Nb laboratoires
Méthode	ISO/NF EN ISO 11290-1	66
	AFNOR BKR 23/02-11/02 (Compass L. mono)	65
	AFNOR AES 10/03-09/00 (ALOA one day)	43
	NM ISO 11290-1	28
	AFNOR BRD 07/04-09/98 (Rapid' L. mono)	19
	AFNOR BRD 07/16-01/09 (Agar Listeria)	10
	AFNOR BIO 12/27-02/10 (VIDAS LMX)	7
	AFNOR BIO 12/11-03/04 (VIDAS LMO2-37°C)	5
	AFNOR BIO 12/02-06/94 (VIDAS Listeria)	5
	AFNOR BIO 12/40-11/16 (GENE UP LMO)	5
	AFNOR BRD 07/10-04/05 (IQ Check Listeria)	3
	AFNOR UNI 03/04-04/05 (Listeria Precis)	3
	Méthode interne	3
	AFNOR BIO 12/18-03/06 (VIDAS LDUO)	3
	AFNOR UNI 03/08-11/13 (PCR)	2
	Autres	4

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 12/27-02/10 **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 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 BIO 12/18-03/06 **VIDAS LDUO**	LX	30°C - 24±2h	LX	30°C - 24/26h	Milieu chromogénique / Palcam / Oxford
AFNOR UNI 03/08-11/13 **PCR**	LEB	37°C – 24/28h			Lyse + PCR

Le détail de la méthodologie suivie par les 94 laboratoires, utilisant les méthodes ISO/NF EN ISO 11290-1 et NM ISO 11290-1, ainsi que les 7 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	66
	NM ISO 11290-1	28
	Méthode interne	3
	Autres	4
Milieu enrichissement I	Aucun enrichissement I	1
	Fraser demi	92
	One Broth Listeria	1
	Autres	6
Température enrichissement I	30-32°C	91
	35-37°C	9
Durée enrichissement I	18-26 h	97
	28-30 h	2
	35 h	1
Milieu enrichissement II	Aucun enrichissement II	8
	Fraser	92
Température enrichissement II	37±1°C	89
	30°C	3
Durée enrichissement II	20-27 h	81
	48 h	11
Milieux isolement	Palcam	68
	Ottaviani et Agosti	51
	Compass Listeria	38
	Oxford	15
	Rapid L'mono	7
	Brilliance Listeria	2
	Autres	2
Température isolement	37±1°C	98
	30°C	1
Durée isolement	44-48 h	68
	22-24 h	31
Test de confirmation	Aucun	5
	Biochimiques	59
	Biochimiques + CAMP	29
	Spectrométrie de masse MALDI-TOF	5
Test de confirmation Nb de colonies testées	1	25
	2-3	9
	5	50

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, méthode, milieux utilisés, fabricants des milieux, mode de préparation, mode d'ensemencement, conditions d'incubation, dilution retenue) et les résultats obtenus. Nous tenons bien à préciser que ce lien statistique n'implique pas une relation de cause à effet. En effet, ce lien peut être dû à un facteur non renseigné dans le questionnaire.

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

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

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

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

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

A titre indicatif, nous vous proposons les valeurs suivantes par analogie à celles indiquées pour l'appréciation de la justesse.
Pour k=5, un indice inférieur à 0.1 ou supérieur à 18 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.45 ou supérieur à 11.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.
Pour k=4, un indice inférieur à 0.03 ou supérieur à 15.5 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.2 ou supérieur à 9.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.
Pour k=3, un indice inférieur à 0.003 ou supérieur à 13.2 peut être considéré comme donnant un signe d'action et un indice inférieur à 0.05 ou supérieur à 7.5 peut être considéré comme donnant un signe d'avertissement.

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

JUSTESSE

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

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

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

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

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)	5.010
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0052
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.0685
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0537
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0641
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.0836

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 (221 laboratoires)	Groupe 2 (20 laboratoires)	Groupe 3 (43 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.812	3.037	3.253
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0169	0.0432	0.0236
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.1858	0.1505	0.1223
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0808		
Ecart-type interlaboratoires (log ufc/g)	0.1823	0.1461	0.1168
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1994	0.1670	0.1421

3.1.3. COLIFORMES TOTAUX

Un “effet” significatif de la méthode, 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 inférieure à 0.3 log ufc/g, les résultats ont été regroupés en un seul groupe :

Coliformes totaux	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.774
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0190
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.2073
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0807
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.2041
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2195

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 (178 laboratoires)	Groupe 2 (15 laboratoires)
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.739	3.132
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0169	0.0661
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.1653	0.1977
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0830	
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1611	0.1942
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1802	0.2104

Remarque : Compte tenu du faible nombre de laboratoires présents dans le groupe 2, l’incertitude de la valeur assignée associée n’est pas négligeable (cf NF ISO 13528 §9.2.1). Tous les laboratoires du groupe 2 obtiennent un z score satisfaisant (sans conséquence), à l’exception d’un laboratoire obtenant un signe d’avertissement. Ce laboratoire en est averti.

3.1.5. *ESCHERICHIA COLI*

Aucun “effet” significatif de la technique d’analyse n’a été mis en évidence.

Escherichia coli	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	2.638
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0118
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.1512
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0811
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1468
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1677

3.1.6. ANAEROBIES SULFITO-REDUCTEURS

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

Un “effet” significatif du fabricant du milieu de culture, du mode d’ensemencement 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)	3.316
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0188
Ecart-type pour l’évaluation de l’aptitude (log ufc/g)	0.2156
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0836
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.2102
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2262

Remarque :
- 3 laboratoires ont détecté des ASR dans l’unité n°1 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 580 à 1200 ufc/g.

- 3 laboratoires ont détecté des ASR dans l'unité n°4 non artificiellement contaminée par *C. perfringens* avec un niveau de contamination allant de 10 à 1500 ufc/g.

3.1.7. *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*

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

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

Clostridium perfringens	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.336
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0187
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1982
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0808
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1926
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.2089

Remarque :
- 2 laboratoires ont détecté *C. perfringens* dans l'unité n°1 non artificiellement contaminée avec un niveau de contamination allant de 190 à 3900 ufc/g.
- Aucun laboratoire n'a détecté *C. perfringens* dans l'unité n°4 non artificiellement contaminée.

3.1.8. STAPHYLOCOQUES A COAGULASE POSITIVE

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 :

Staphylocoques à coagulase positive	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.782
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0101
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.1288
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0596
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.1260
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1394

3.1.9. *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Seules les unités n°1, 2, 3 et 5 étaient artificiellement contaminées.

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

Listeria monocytogenes	
Valeur assignée de la contamination (log ufc/g)	3.135
Incertitude de la valeur assignée (log ufc/g)	0.0073
Ecart-type pour l'évaluation de l'aptitude (log ufc/g)	0.0856
Ecart-type de fidélité (log ufc/g)	0.0702
Ecart-type inter-laboratoires (log ufc/g)	0.0780
Ecart-type de reproductibilité (log ufc/g)	0.1050

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 et 5 étaient artificiellement contaminées.
289 laboratoires ont obtenu des résultats justes.
10 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 6, 7 et 3 faux-positifs pour les unités n°1, 3 et 4).
7 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 5 et 5 faux-négatifs pour les unités n°2 et 5).

3.2.2. DETECTION – *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Seules les unités n°1, 2, 3 et 5 étaient artificiellement contaminées.
265 laboratoires ont obtenu des résultats justes.
4 laboratoires ont obtenu des résultats faussement positifs (respectivement 4 pour l'unité n°4).
5 laboratoires ont obtenu des résultats faussement négatifs (respectivement 1, 3, 3 et 2 faux-négatifs pour les unités n°1, 2, 3 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 60ème 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.

Association ASA / Adresse postale – 149 rue de Bercy, 75012 Paris