

3M SANTE

Boulevard de l'Oise

95029 CERGY PONTOISE CEDEX

Validation AFNOR des méthodes alternatives d'analyse
Application à la microbiologie alimentaire

Rapport de synthèse

**Etude de reconduction ISO 16140
de la validation du Petrifilm Select *E. coli*
pour le dénombrement des *Escherichia coli*
dans les produits alimentaires**

Ce rapport comprend 34 pages dont 4 annexes.

L'accréditation du COFRAC atteste de la compétence du laboratoire pour les seuls essais couverts par l'accréditation qui sont identifiés par le symbole♦.

Synthèse Reconduction Petrifilm Select *E. coli*
Version 0 (6 juillet 2009)

ADRIA DEVELOPPEMENT

Sommaire

1	RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE	4
1.1	Date de la première validation et date de reconduction	4
1.2	Protocole et principe de la méthode alternative	4
1.3	Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée	5
1.4	Notice à jour, ainsi que toutes les précédentes notices ayant été en vigueur depuis la précédente validation ou reconduction	5
1.5	Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale	5
1.5.1	<i>Etude comparative des méthodes</i>	5
1.5.2	<i>Etude interlaboratoire</i>	17
1.5.3	<i>Conclusion</i>	22
1.6	Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation	23
2	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	24
3	ETAT DES MODIFICATIONS INTERVENUES DEPUIS LA PRECEDENTE VALIDATION	24
□	<i>Annexe 1 : Méthode de référence NF ISO 16649-2</i>	26
□	<i>Annexe 2 : Résultats de l'exactitude relative</i>	27
□	<i>Annexe 3 : Résultats de la spécificité et de la sélectivité</i>	32
□	<i>Annexe 4 - Liste des laboratoires collaborateurs</i>	34

Avant Propos

L'ensemble des renseignements permettant de valider la garantie des analyses est tenu à la disposition de la Société 3M SANTE

Les résultats sont synthétisés au sein de tableaux et interprétés selon la norme NF EN ISO 16140.

- ✓ **Fabricant :** Laboratoires 3M SANTE
Boulevard de l'Oise
95029 CERGY PONTOISE CEDEX

- ✓ **Laboratoire expert :** ADRIA Développement
ZA Creac'h Gwen
29196 QUIMPER Cedex

- ✓ **Méthode à valider :** Reconduction du Petrifilm Select *E. coli* pour le dénombrement des *Escherichia coli* dans les produits alimentaires

- ✓ **Référentiel de validation :** Norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003) : microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives

- ✓ **Méthode de référence[♦] :** Méthode NF ISO 16649-2 (2001) : Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase positive - Partie 2 : technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -glucuronate

- ✓ **Etendue de la validation :** Tous produits d'alimentation humaine

[♦] Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

1 RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE

1.1 Date de la première validation et date de reconduction

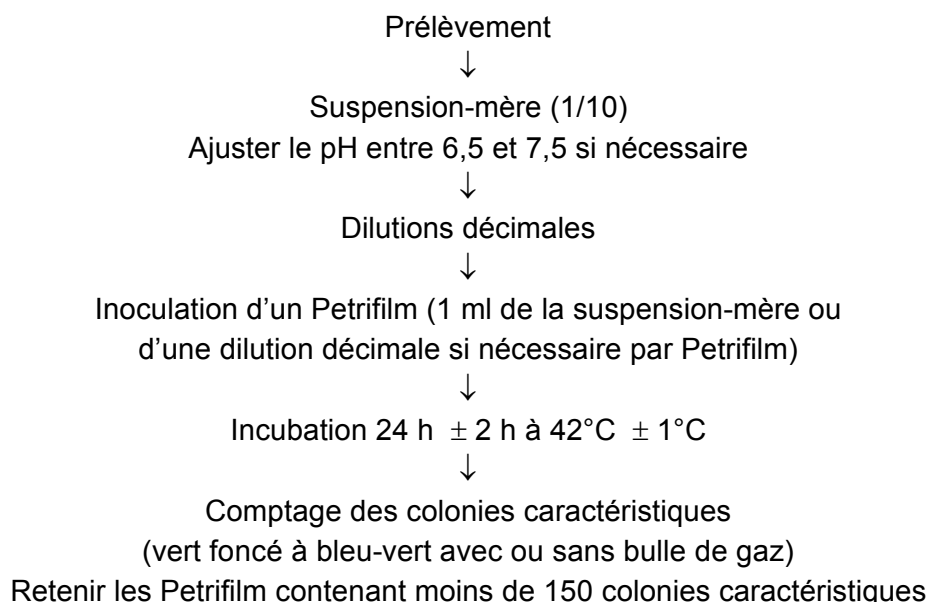
Le Petrifilm Select *E. coli* a été validé le 14 juin 2001 (attestation n° 3M-01/8-06/01), selon les exigences relatives aux études de validation (révision 5 du 2 mars 1999). La reconduction a eu lieu le 7 avril 2005 et la validation expire le 14 juin 2009.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

Le Test Petrifilm Select *E. coli* (SEC) permet le dénombrement sélectif des *E. coli* présentant une activité bêta-glucuronidase. Cette enzyme en réagissant avec le BCIG (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide) présent dans les Tests Petrifilm SEC, entraîne une coloration des colonies de vert foncé à bleu-vert.

Le protocole est présenté figure 1:

Figure 1 - Protocole d'analyse par la méthode Petrifilm *E. coli*



1.3 Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée

La méthode de référence est la méthode NF ISO 16649-2 (2001) : Méthode horizontale pour le dénombrement des *Escherichia coli* β -glucuronidase positive - Partie 2 : technique de comptage des colonies à 44°C au moyen de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -glucuronate (Cf. annexe 1).

1.4 Notice à jour, ainsi que toutes les précédentes notices ayant été en vigueur depuis la précédente validation ou reconduction

Aucun changement dans la notice depuis la dernière validation.

1.5 Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale

1.5.1 Etude comparative des méthodes

1.5.1.1. Etude de linéarité

□ Protocole

Cinq couples (catégorie / souche) ont été analysés à cinq niveaux de contamination, de façon à couvrir la gamme de contamination habituellement rencontrée. Deux répétitions ont été réalisées par échantillon. Les produits ont été analysés à la fois par la méthode alternative et la méthode de référence.

Les matrices suivantes ont été testées :

- steak haché inoculé par *E. coli* 13, isolée de steak haché,
- escalope de poulet inoculée par *E. coli* 96, isolée d'escalope de dinde,
- lait inoculé par *E. coli* 14, isolée de lait cru,
- poisson cru inoculé par *E. coli* Ad 228, isolée de poisson,
- carottes râpées inoculées par *E. coli* 19, isolées de carottes râpées.

□ Résultats

Les graphiques bidimensionnels pour chaque catégorie sont donnés figure 1 et les droites de régression figure 2.

Figure 2 - Linéarité : graphiques bidimensionnels

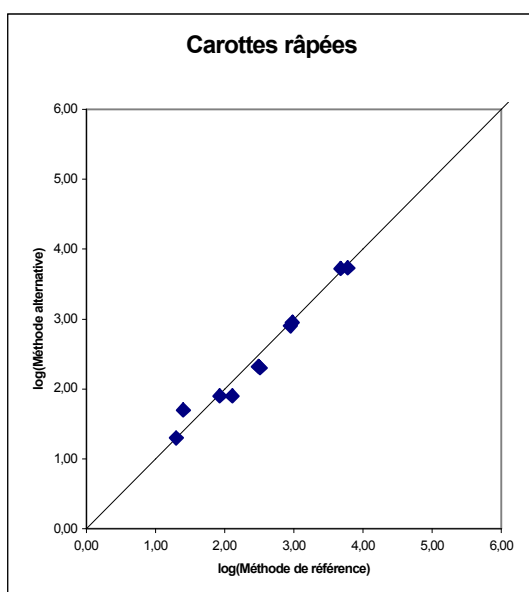
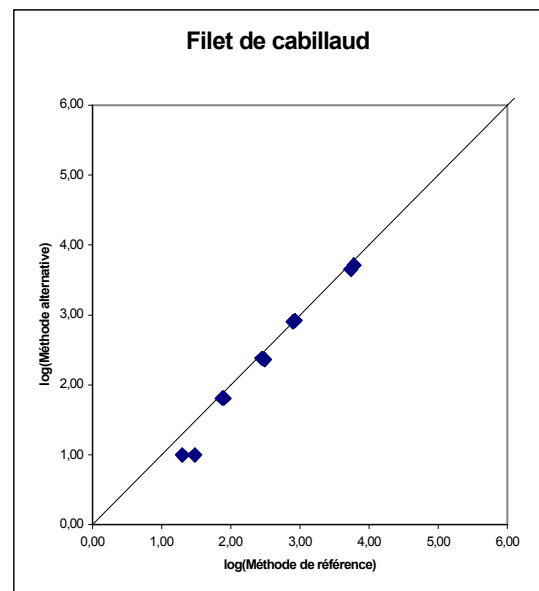
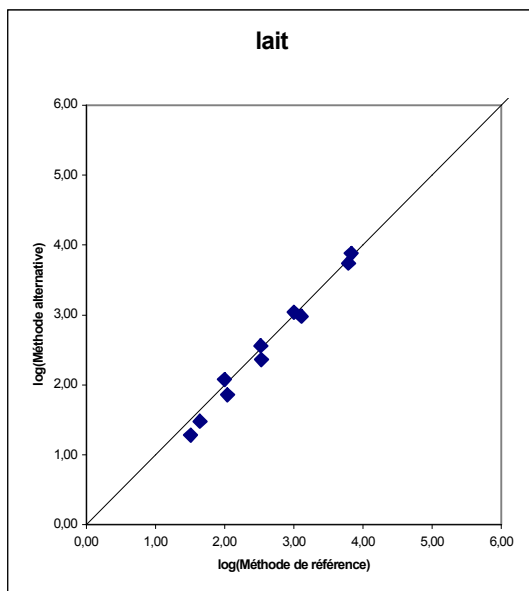
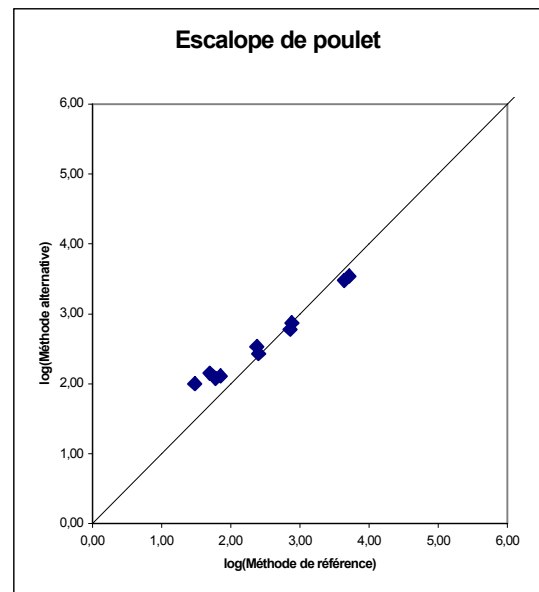
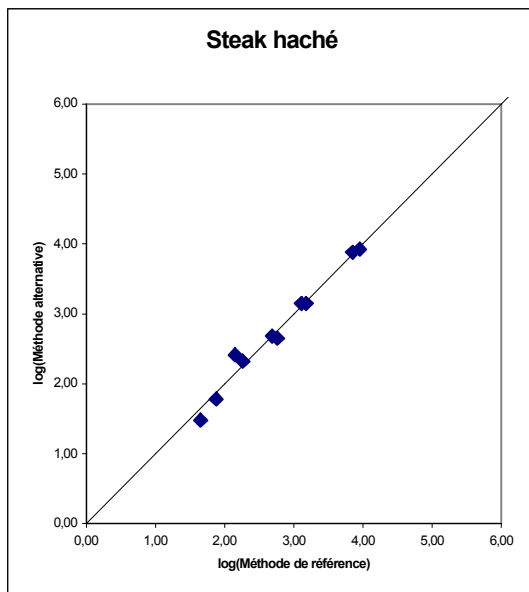
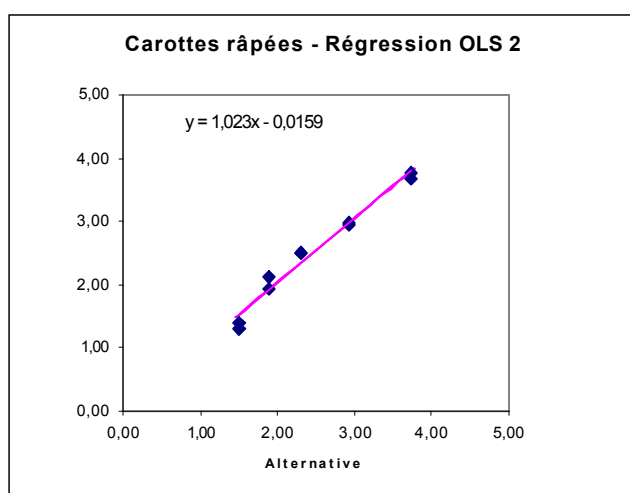
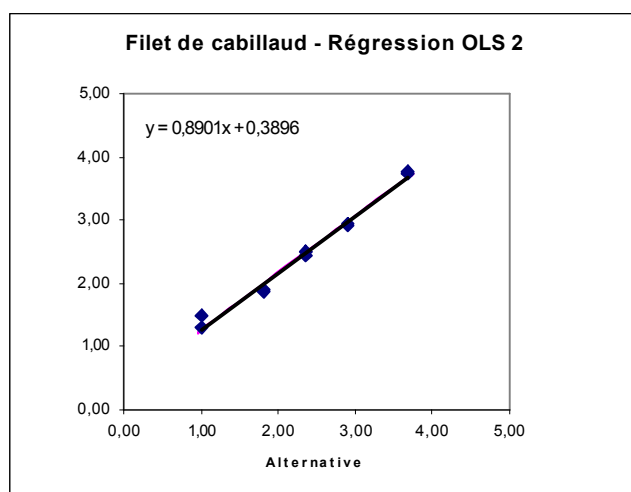
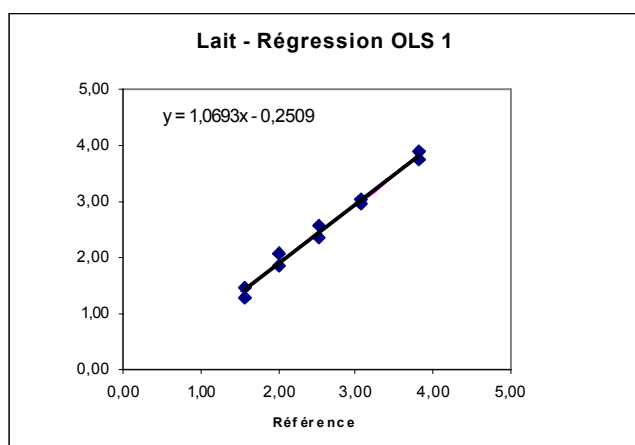
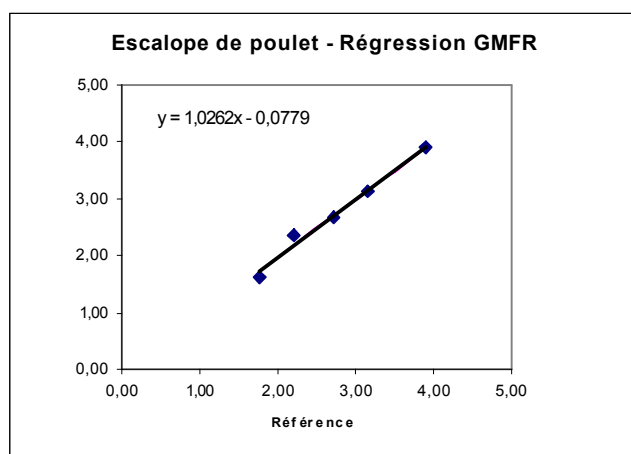
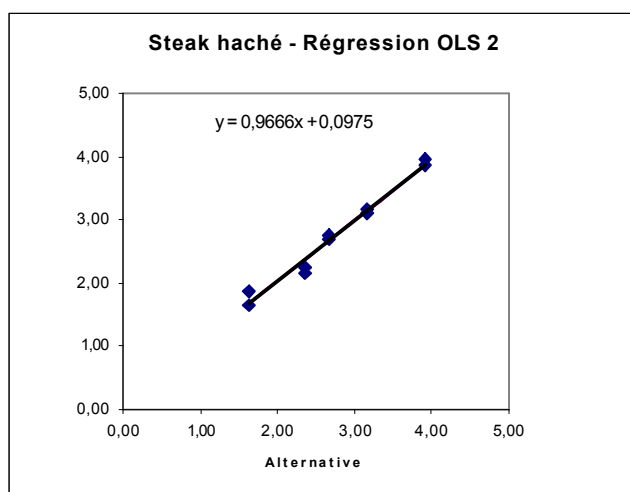


Figure 3 - Linéarité : droites de régression

Interprétation statistique :

$P > 5 \%$: pas significatif
 $0,1 \% < P < 1 \%$: très significatif

$1 \% < P < 5 \%$: significatif
 $P < 0,1 \%$: hyper significatif

Un récapitulatif des données statistiques est donné dans le tableau 1.

**Tableau 1 - Récapitulatif des données statistiques
de l'étude de linéarité**

Matrice	R	Régression utilisée	Rob. F	Valeur critique	P %	Coefficient de corrélation	Equation de la droite de régression
Steak haché	0,40	OLS2	6,25	5,41	4	0,988	$\log \text{Ref} = 0,10 + 0,97 \log \text{Alt}$
Escalope de poulet	1,14	GMFR	45,42	5,41	0	0,992	$\log \text{Alt} = - 0,08 + 1,03 \log \text{Ref}$
Lait	5,00	OLS1	0,00	5,41	100	0,994	$\log \text{Alt} = - 0,25 + 1,07 \log \text{Ref}$
Filet de cabillaud surgelé	0,50	OLS2	34,49	5,41	0	0,993	$\log \text{Ref} = 0,39 + 0,89 \log \text{Alt}$
Carottes râpées	0,20	OLS2	7,80	5,41	2	0,988	$\log \text{Ref} = - 0,02 + 1,02 \log \text{Alt}$

Interprétation statistique :

P > 5 % : pas significatif 1 % < P < 5 % : significatif
0,1 % < P < 1 % : très significatif P < 0,1 % : hyper significatif

□ Conclusion

La valeur de P est supérieure à 5 % pour le lait. Le test de non-linéarité est non significatif pour cette matrice.

Le test est significatif pour les matrices steak haché et carottes râpées. Pour les matrices escalope de poulet et filet de cabillaud surgelé, il apparaît hyper significatif. Les coefficients de corrélation obtenus pour les différentes droites de régression sont élevés (0,988 à 0,994). Il est reconnu que le test de linéarité perd sa robustesse lorsque le coefficient de corrélation est élevé.

Il est à noter que le test de linéarité s'avère très satisfaisant pour la matrice lait, seule matrice où il n'y a pas eu recours à l'estimation des petits nombres lors des analyses.

La linéarité de la méthode Petrifilm Select E. coli apparaît satisfaisante pour toutes les matrices testées.

1.5.1.2. Exactitude relative

□ Protocole

Lors de l'étude de validation réalisée en 2001, 162 produits avaient été analysés pour obtenir 118 résultats exploitables. Ces résultats ont été exploités selon la norme ISO 16140.

□ Résultats

Les résultats bruts sont donnés en annexe 2. Les graphiques bidimensionnels pour chaque catégorie sont donnés figure 3 et les droites de régression figure 4.

Un récapitulatif des calculs statistiques est donné dans le tableau 2.

□ **Nombre et nature des échantillons**

Tableau 2 - Nombre d'échantillons analysés et exploités par catégorie

Catégorie	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons exploités
Produits carnés	27	16
Volaille	24	16
Produits laitiers	34	27
Produits de la mer et végétaux	51	32
Ovoproduits et autres	28	26
Tous produits	164	118

□ **Résultats**

Tableau 3 - Récapitulatif des données statistiques de l'étude d'exactitude relative

Catégorie	n	R	Régression utilisée	a	t (a)	b	t (b)	Tcritique	P %		Coef. corrélation	Droite de régression
									Ordonnée à 0	Pente à 1		
Produits carnés	16	1,25	GMFR	0,691	6,510	0,804	3,525	2,132	0	0,3	0,967	log Alt = 0,69 + 0,80 log Réf.
Volaille	16	0,42	OLS2	0,228	1,279	0,718	4,070	2,132	22,2	0,1	0,937	log Réf = 0,23 + 0,72 log Alt..
Produits laitiers	27	0,77	GMFR	- 0,109	0,693	1,091	1,484	2,060	49,4	15	0,959	log Alt = - 0,11 + 1,09 log Réf.
Produits de la mer et végétaux	32	0,72	GMFR	0,356	2,210	0,935	0,951	2,043	3,5	34,9	0,920	log Alt = 0,36 + 0,94 log Réf.
Ovoproduits et autres	26	0,52	GMFR	0,370	4,231	0,908	0,024	2,064	0	2,4	0,979	log Alt = 0,37 + 0,91 log Réf.
Tous produits	118	0,80	GMFR	0,234	4,935	0,999	0,008	1,984	0	99,3	0,940	log Alt = 0,23 + 1,00 log Réf.

Avec a : ordonnée à l'origine de la droite de régression et b : pente de la droite de régression

Interprétation statistique :

P > 5 % : pas significatif
0,1 % < P < 1 % : très significatif

1 % < P < 5 % : significatif
P < 0,1 % : hyper significatif

Tableau 4 - Calcul du biais et de la limite de répétabilité

Catégorie	Biais D	Répétabilité méthode alternative	Répétabilité méthode de référence
Produits carnés	0,315	0,220	0,063
Volaille	0,363	0,161	0,382
Produits laitiers	0,100	0,308	0,411
Produits de la mer et végétaux	0,150	0,235	0,308
Ovoproduits et autres	0,165	0,176	0,338
Tous produits	0,210	0,235	0,294

Catégorie d'aliments	Domaine de contamination (log)
Produits carnés	0,66 à 2,69
Volaille	0,66 à 4,71
Produits laitiers	0,26 à 5,07
Produits de la mer et végétaux	0,66 à 4,62
Ovoproduits et autres	0,70 à 3,56

Tous produits et tous taux de contamination confondus, le biais entre les deux méthodes est de 0,210, en faveur de la méthode alternative.

L'équation de la droite de régression est : $\log \text{Select E. coli} = 0,23 + 1,00 \log \text{ISO}$

La limite de répétabilité de la méthode alternative est de 0,235 ; elle est de 0,294 pour la méthode de référence.

Figure 4 - Exactitude relative : graphiques bidimensionnels

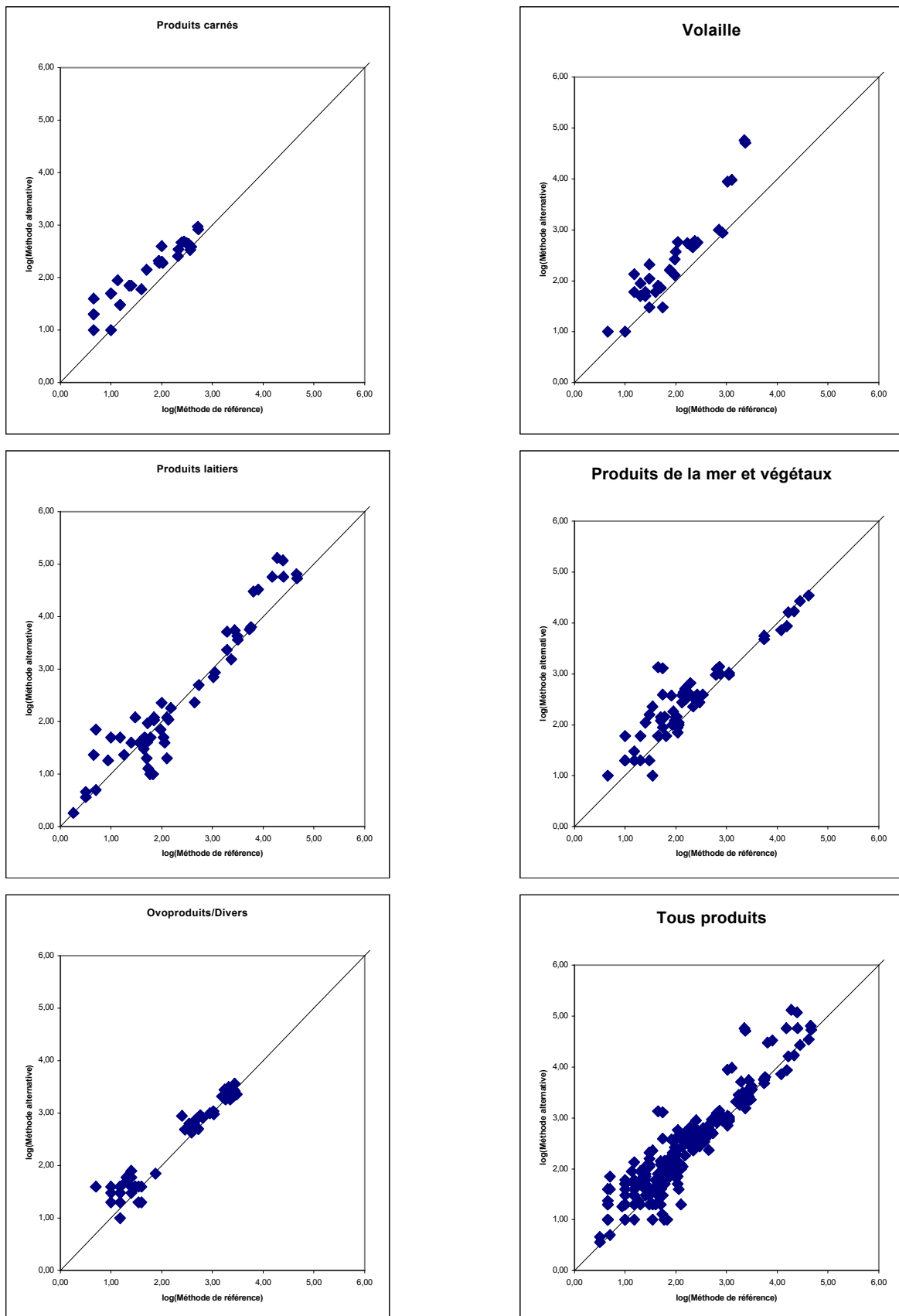
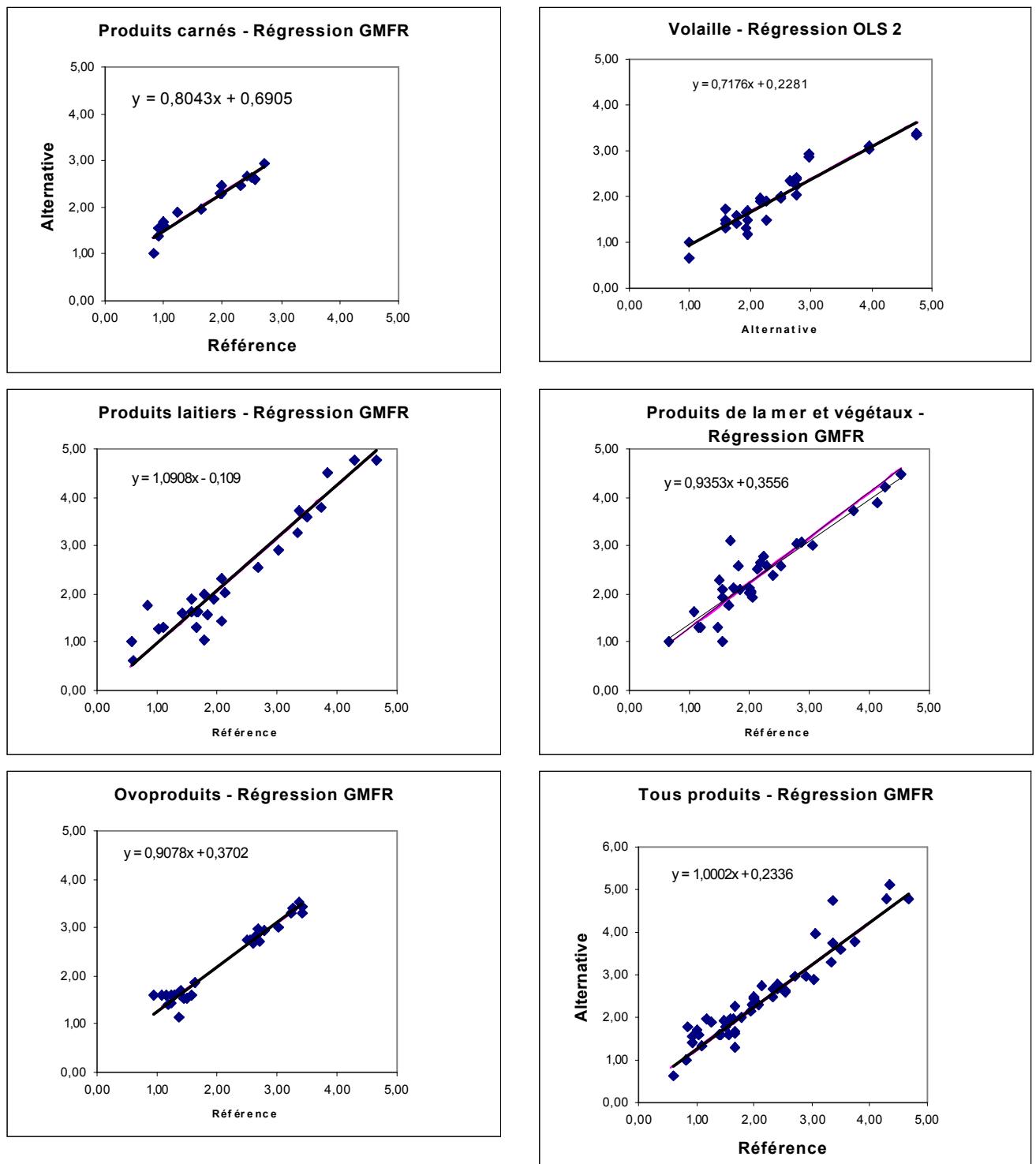


Figure 5 - Exactitude relative : droites de régression



□ **Conclusion**

Il est à noter, dans tous les cas, un biais entre la méthode alternative et la méthode de référence, biais traduisant un meilleur recouvrement des cellules *E. coli* par la méthode Petrifilm Select *E. coli*. Toutefois, les écarts observés entre la méthode de référence et la méthode alternative sont rarement supérieurs à 0,5 log UFC/g. Ces observations permettent d'appréhender les résultats de tests statistiques indiquant, selon les catégories, des ordonnées à l'origine différentes de 0 ou des pentes différentes de 1.

Lors de l'étude menée en 2001, un certain nombre d'identifications avait été réalisé sur des colonies issues d'échantillons présentant une différence de dénombrement entre les deux méthodes ; les résultats suivants avaient été obtenus :

N° éch.	Produit	Résultats Petrifilm Select <i>E. coli</i> (log UFC/g)	Résultats TBX (log UFC/g)	Nombre de colonies prélevées	Identifications
A7	Bethmal	1,77	0,85	10 (Petrifilm)	<i>E. coli</i> : 6 <i>E. agglomerans</i> : 1 <i>Hafnia alvei</i> : 3
A76	Chou	3,12	1,70	24 (Petrifilm)	<i>E. coli</i> : 24
A87	Lait	1,06	1,78	10 (TBX)	<i>E. coli</i> : 10
A95	Foie de poulet	4,73	3,36	15 (Petrifilm)	<i>E. coli</i> : 15

Les quatre colonies non identifiées à l'espèce *E. coli* ont été inoculées en Petrifilm ; aucune colonie caractéristique n'a été obtenue. Il est possible qu'au moment du repiquage, une colonie proche de la colonie caractéristique se soit développée à la place de celle-ci, ce qui expliquerait la non confirmation du caractère β -glucuronidase positif.

Ainsi, seules des colonies appartenant à l'espèce *E. coli* sont dénombrées sur Petrifilm Select *E. coli*, avec un meilleur taux de recouvrement que celui de la méthode de référence.

La méthode Petrifilm Select *E. coli* montre une exactitude relative satisfaisante.

1.5.1.3. Limites de détection et de quantification

□ Protocole

La limite de détection a été réalisée à l'aide d'une culture de *Escherichia coli* 94.

Quatre niveaux d'inoculation ont été testés, ainsi que le niveau 0. Les dénombrements des suspensions ont été réalisés en inoculant 10 fois 1 ml de chaque suspension en milieu PCA.

□ Résultats

Un récapitulatif est donné dans le tableau 5.

Tableau 5 - Récapitulatif de la limite de détection et quantification

Niveau visé	Nombre d'échantillons « positifs »	Ecart-type So	Biais Xo
0	0 / 6	/	/
0,5	3 / 6	0,983	0,5
1	3 / 6	0,816	0,5
5	6 / 6	2,074	5,5
10	6 / 6	3,724	11

La limite critique (LC), la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été calculées à partir des valeurs obtenues pour le niveau 0,5. Il s'agit de caractéristiques intrinsèques à la méthode Petrifilm Select *E. coli*, les résultats sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6

	Formules	Valeurs obtenues
LC	$1,65 S_o + X_o$	2,1
LOD	$3,3 S_o + X_o$	3,7
LOQ	$10S_o + X_o$	10,3

1.5.1.4. Sensibilité relative

☐ Protocole

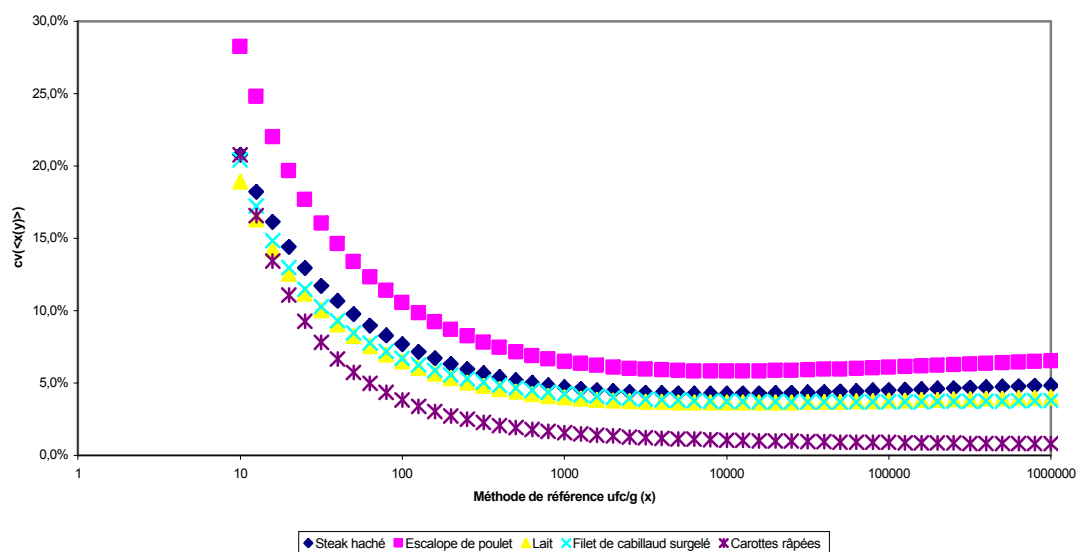
La sensibilité relative a été déterminée à l'aide des résultats obtenus pour l'étude de la linéarité.

Le profil de précision CV ($Lx(y)>$) par rapport à $x(y)$ a été tracé pour chacune des matrices testées ($CV (< y(x) > = S (< y(x) > / y (x))$).

☐ Résultats

Les profils de précision obtenus sont présentés sur la figure 6 et correspondent à des caractéristiques intrinsèques à la méthode Petrifilm Select *E. coli*.

Figure 6 - Profils de précision obtenus pour les différentes matrices



1.5.1.5. Spécificité et sélectivité

☐ Protocole

L'objectif de l'étude de spécificité est de vérifier que les souches de *E. coli* se développent en donnant des colonies caractéristiques sur le Petrifilm Select *E. coli* et que les autres souches ne s'y développent pas.

L'étude a porté sur 31 souches *E. coli* de collection ou isolées de produits alimentaires à l'ADRIA, ainsi que sur 21 souches n'appartenant pas à l'espèce *E. coli*.

Les souches ont été inoculées en double sur le Petrifilm Select *E. coli* et en TBX. L'aspect des colonies a été noté. Un dénombrement sur PCA à 30°C a été effectué en parallèle.

□ Résultats

Les résultats sont présentés en annexe 3 et sont issus des études menées à l'ADRIA en 2001 pour l'obtention de la validation AFNOR et en 2003 pour la validation NORDVAL.

Sur les 31 souches testées, 3 souches donnent des colonies non caractéristiques (blanches) à la fois sur Petrifilm et sur milieu TBX ; il s'agit d'une souche *E. coli* 0157:H7 (ATCC 43888) de phénotype [β -glucuronidase] et des souches *E. coli* 12 et *E. coli* 91. Sur gélose TBX, en plus des 3 souches citées précédemment, 2 souches (*E. coli* 142 et *E. coli* 144) donnent des colonies bleues très pâles, une souche (*E. coli* 118) ne s'y développe pas.

En ce qui concerne les souches négatives, aucune croissance n'a été observée sur Petrifilm à l'exception de la souche *Shigella flexneri* CIP 8248 qui montre des colonies blanches. En milieu TBX, 5 souches ont également donné des colonies blanches (*Citrobacter freundii* 23, *Shigella flexneri* CIP 8248, *Citrobacter diversus* 140, *Klebsiella pneumoniae* 114 et *Buttarse agrestis* 115), les autres souches testées ne s'étant pas développées sur le milieu.

□ Conclusion

Le Petrifilm Select *E. coli* est spécifique des souches *E. coli* β -glucuronidase positives.

La sélectivité du Petrifilm Select *E. coli* apparaît satisfaisante ; aucune réaction faussement positive n'a été obtenue.

1.5.1.6. Praticabilité

Temps réel de manipulation / flexibilité de la technique par rapport au nombre d'échantillons à analyser	Le temps de manipulation est identique pour une grande ou une petite série d'échantillons
Délai d'obtention des résultats	Le résultat est obtenu en 24 h (indiqué sur la notice)

Les principaux atouts de la méthode Petrifilm Select *E. coli* par rapport à la méthode de référence sont le gain de place à l'étape d'incubation, la facilité des manipulations, la gestion facilitée des déchets. Il s'agit de milieux prêts à l'emploi, impliquant ainsi un gain de temps de manipulation important par rapport à la méthode de référence.

Le Petrifilm présente également un avantage au niveau de la lecture des résultats. Des produits présentant une flore annexe importante posent des problèmes avec la méthode de référence 16649-2 (les boîtes contenant plus de 300 colonies au total ne pouvant être retenues). Avec le Petrifilm, le développement de colonies non caractéristiques est rare, permettant d'exploiter ainsi la quasi-totalité des analyses.

1.5.2 Etude interlaboratoire

1.5.2.1. Préparation

Quatorze laboratoires collaborateurs ont participé à l'étude ; la liste est donnée en annexe 4.

Du lait pasteurisé demi-écrémé a été inoculé par une souche de *Escherichia coli* 94, isolée de lait cru à l'ADRIA.

1.5.2.2. Analyses

Les laboratoires collaborateurs et le laboratoire expert ont effectué les analyses à la fois par la méthode alternative et la méthode de référence.

1.5.2.3. Résultats

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile de la matrice a été effectué selon la méthode ISO 4833. Les résultats obtenus varient de 50 à 660 UFC/ml.

Les résultats de dénombrement des *Escherichia coli* par le laboratoire expert par la méthode ISO 16649-2 et par la méthode Petrifilm Select E. coli sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 - Résultats du laboratoire expert (en log UFC/g)

Taux visé (log UFC/g)	Méthode de référence ISO 16649-2		Méthode alternative Petrifilm Select <i>E. coli</i>	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
0	0	0	0	0
1 à 2	1,86	1,81	1,84	1,81
2 à 3	2,64	2,68	2,74	2,65
3 à 4	3,38	3,60	3,81	3,73

Les taux de contamination visés ont été atteints.

Une synthèse des résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs est présentée tableau 8.

**Tableau 8 - Synthèse des résultats obtenus par
la méthode NF ISO 16649-2 et la méthode Petrifilm Select E. coli**

Laboratoires	Niveau 0				Niveau 1				Niveau 2				Niveau 3			
	Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative	
A	<1	<1	<1	<1	85	80	75	74	710	900	660	750	3500	5800	4600	5500
B	<1	<1	<1	<1	10	44	56	65	210	130	460	470	90	96	4200	3700
C	<1	<1	<1	<1	73	65	69	65	440	480	550	450	2400	4000	6400	5400
D	<1	<1	<1	<1	70	67	70	56	550	450	470	520	7400	4600	4700	5500
E	<1	<1	<1	<1	65	70	60	69	580	510	470	520	4300	4800	4400	5200
F	<1	<1	<1	<1	40	59	77	55	550	430	480	540	2300	3500	5500	4400
G	<1	<1	<1	<1	43	50	73	71	100	80	760	610	1500	40	4700	7000
H	<1	<1	<1	<1	72	73	69	72	370	250	650	480	970	1000	5500	4700
I	<1	<1	<1	<1	65	74	70	52	860	730	660	590	6000	6700	5900	6100
J	<1	<1	<1	<1	65	75	66	64	540	560	890	680	3100	3900	5000	6800
K	<1	<1	<1	<1	59	65	59	70	440	530	520	560	2300	2700	5300	5200
L	<1	<1	<1	<1	70	72	85	55	530	530	530	90	2000	2000	5400	5400
M	<1	<1	<1	<1	77	81	69	73	720	790	570	570	7700	6900	3500	5800
N	<1	<1	<1	<1	77	73	57	75	260	210	660	420	2600	1300	3600	5800

□ **Interprétation statistique**

➤ **Biais**

Tableau 9 - Valeurs de t(d) obtenues par niveau

Niveau	Biais D	t(d)	t critique ddl (n-1)	Conclusion
1 (n = 14)	- 0,02	2,09	2,160	Biais D Non significatif
2 (n = 14)	0,03	0,52	2,160	Biais D Non significatif
3 (n = 14)	0,26	2,53	2,160	Biais D Significatif

Niveau critique : t(d) < t critique

➤ Répétabilité**Tableau 10 - Valeurs obtenues pour la limite de répétabilité et valeurs pour le Test F**

Niveau	Limite de répétabilité		F ou 1/F calculé	F critique (0,05 ; n ; n)	P %
	Méthode de référence	Méthode Alternative			
1 (n = 14)	0,117	0,176	2,250	2,48	7,0
2 (n = 14)	0,250	0,161	2,388	2,48	5,7
3 (n = 14)	0,250	0,235	1,129	2,48	41,2

➤ Reproductibilité**Tableau 11 - Valeurs obtenues pour la limite de reproductibilité et valeurs pour le Test F**

Niveau	Limite de reproductibilité		F ou 1/F calculé	F critique (0,05 ; n - 1 ; n-1)	P %
	Méthode de référence	Méthode Alternative			
1 (n = 14)	0,157	0,150	1,100	2,58	43,3
2 (n = 14)	0,675	0,223	9,121	2,58	0,02
3 (n = 14)	1,124	0,235	22,79	2,58	8,0.10 ⁻⁵

Tableau 12 - Rapports répétabilité / Reproductibilité

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
1 (n = 14)	1,339	0,851
2 (n = 14)	2,704	1,384
3 (n = 14)	4,506	1,003

➤ Dispersion entre laboratoires

Tableau 13 - Dispersion entre les laboratoires

Niveau	Méthode de référence F	Méthode alternative F ou 1/F	F critique (0,05 ; n-1 ; n)
1 (n = 14)	2,588	2,225	2,55
2 (n = 14)	13,622	2,830	2,55
3 (n = 14)	39,605	1,011	2,55

□ **Discussion**

Le biais entre la méthode de référence et la méthode Petrifilm Select E. coli est non significatif pour les deux premiers niveaux ; un biais significatif est obtenu pour le niveau 3, biais en faveur de la méthode alternative.

Les écarts obtenus entre la méthode de référence et la méthode alternative sont plus importants pour les taux de contamination les plus forts ; en effet, un certain nombre de résultats obtenus par la méthode de référence montre un écart par rapport aux résultats attendus, contrairement à la méthode alternative :

- pour le niveau 2 : laboratoires B et G,
- pour le niveau 3 : laboratoires B, G, H et N.

Les répétabilités sont comparables pour les deux méthodes pour les trois niveaux testés, en considérant les résultats de l'ensemble des laboratoires.

Les méthodes montrent une reproductibilité comparable, uniquement au niveau 1. Pour les niveaux 2 et 3, une différence hyper significative est observée en faveur de la méthode alternative. Les valeurs de la limite de reproductibilité obtenues pour la méthode de référence sont très élevées pour le niveau 3. Les rapports limite de reproductibilité / limite de répétabilité sont meilleurs pour la méthode alternative par rapport à ceux de la méthode de référence, quel que soit le niveau testé et restent toujours inférieurs à 2.

La dispersion entre laboratoires est très importante pour la méthode de référence et augmente avec le taux d'inoculation, alors qu'elle diminue avec le taux de contamination par la méthode alternative. Ainsi, les valeurs de F sont systématiquement supérieures à la valeur critique pour la méthode de référence alors qu'elles sont inférieures pour la méthode alternative.

1.5.3 Conclusion

Les conclusions de l'étude comparative des méthodes sont les suivantes :

- ✓ La méthode Petrifilm Select E. coli montre une linéarité relative satisfaisante.

- ✓ **La méthode Petrifilm Select E. coli permet un meilleur recouvrement des cellules *E. coli* que la méthode de référence.** Ainsi, un biais est systématiquement observé entre les deux méthodes qu'il s'agisse de l'évaluation de l'exactitude relative au cours de l'étude préliminaire ou de l'étude collaborative. **Toutefois, les écarts de dénombrement observés entre la méthode de référence et la méthode Petrifilm Select E. coli sont rarement supérieurs à 0,5 log UFC/g.** Ces observations permettent d'appréhender les résultats de l'exactitude relative, exactitude relative satisfaisante de ce fait.

- ✓ Des données intrinsèques à la méthode Petrifilm Select E. coli ont également été caractérisées : la limite de détection, la limite de quantification et la sensibilité relative.

- ✓ L'intérêt majeur de la méthode Petrifilm Select E. coli réside dans **le gain de place à l'incubation des Petrifilm, la gestion facilitée des déchets, la facilité des manipulations, la facilité à la lecture des résultats** en l'absence quasi-systématique de flore annexe.

Les conclusions de l'étude interlaboratoires sont les suivantes :

- ✓ Le biais entre la méthode de référence et la méthode Petrifilm Select E. coli est non significatif pour les deux premiers niveaux. **La méthode Petrifilm Select E. coli permettant un meilleur recouvrement que la méthode de référence**, un biais est observé pour le niveau 3, en faveur de la méthode alternative.

- ✓ **La répétabilité de la méthode Petrifilm Select E. coli est comparable à celle de la méthode de référence**, pour tous les niveaux testés.

- ✓ **La méthode Petrifilm Select E. coli montre une reproductibilité nettement meilleure à celle de la méthode de référence**, pour tous les niveaux testés.

- ✓ La valeur du rapport « reproductibilité / répétabilité », souhaitée selon la norme ISO 16140, est systématiquement observée pour tous les niveaux testés par la méthode Petrifilm Select E. coli.

- ✓ **La dispersion des résultats entre laboratoires est nettement meilleure par la méthode Petrifilm Select E. coli que par la méthode de référence.**

- ✓ Ainsi, plus particulièrement pour le niveau 3, **la méthode de référence est mise en défaut par la méthode Petrifilm Select E. coli**, tant au niveau de la dispersion des résultats entre laboratoires et de la reproductibilité, que de la capacité à recouvrir les cellules.

1.6 Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation

Aucune modification n'est intervenue dans la méthode depuis la dernière validation.

2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Un article a été référencé dans les bases de données depuis décembre 2005 : Wu S., Chouliara E., Bogo Jensen L, Dalsgaard A. Evaluation of Petrifilm™ Select *E. coli* Count Plate medium to discriminate antimicrobial resistant *Escherichia coli*. Acta Veterinaria Scandinavica, 2008, **50** :38.

Les performances du Petrifilm™ Select *E. coli* supplémenté en composés antimicrobiens ont été évaluées afin de discriminer les souches *E. coli* résistantes et non résistantes. La détermination des concentrations minimales inhibitrices pour huit composés antimicrobiens a été réalisée en parallèle sur milieu Mueller-Hinton II. Les résultats sont concordants entre les deux méthodes et le Petrifilm™ Select *E. coli* permet de différencier et dénombrer les souches *E. coli* résistantes à l'ampicilline, céphalothine, streptomycine, choramphénicole, céfotaxime, gentamycine et oxytétracycline.

3 ETAT DES MODIFICATIONS INTERVENUES DEPUIS LA PRECEDENTE VALIDATION

Un amendement à la norme ISO 16140 est envisagé dans l'interprétation des résultats de l'étude interlaboratoire. L'exploitation des données est présentée ci-après :

Niveau	Méthode de référence			Méthode alternative			Ratios Répétabilité	Ratios Reproductibilité	D(bias)	t
	Médiane	Répétabilité	Reproductibilité	Médiane	Répétabilité	Reproductibilité				
1	1,8396	0,0459	0,0674	1,8144	0,0673	0,0564	1,467	0,837	-0,01841499	-1,18
2	2,6919	0,0766	0,2686	2,7267	0,0737	0,0875	0,961	0,326	0,02717129	0,38
3	3,4720	0,1308	0,3766	3,7062	0,0906	0,0837	0,693	0,222	0,2585805	1,92

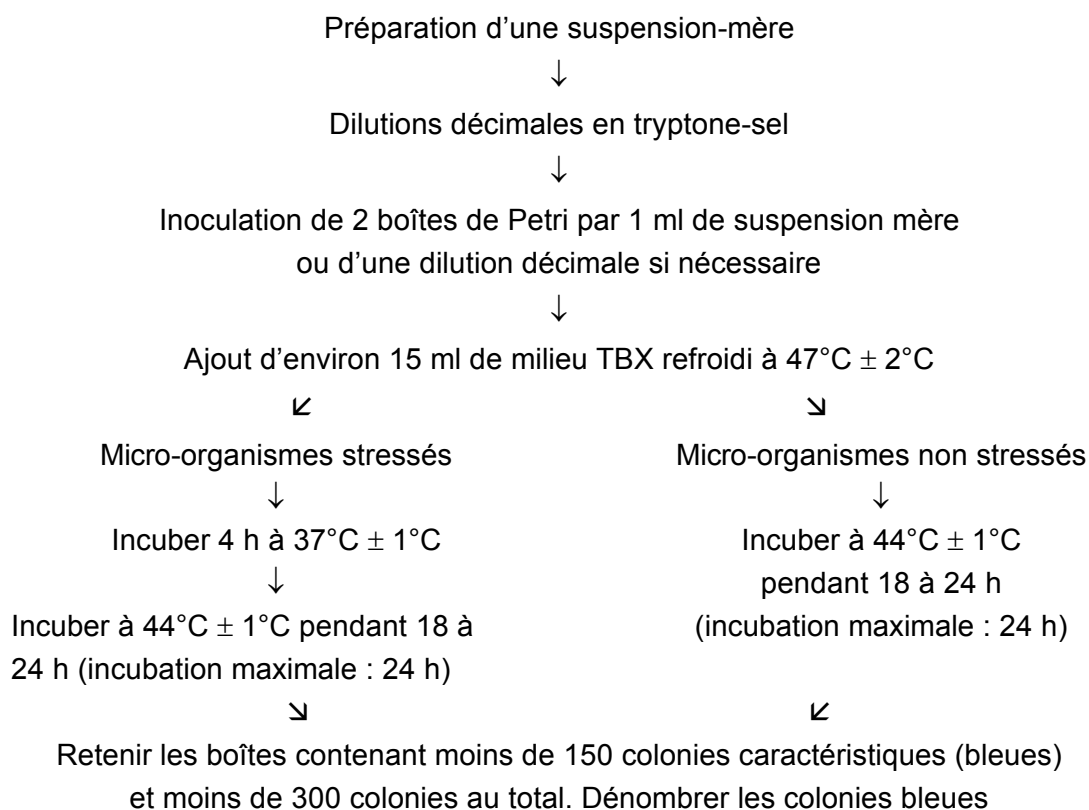
0,5<Ratio<2
alors pas de différence
significative

si t<2 alors pas de différence significative
entre les deux méthodes

Niveau	Méthode de référence			Méthode alternative		
	Médiane	Limite de répétabilité	Limite de reproductibilité	Médiane	Limite de répétabilité	Limite de reproductibilité
1	1,8396	0,1284	0,1888	1,8144	0,1884	0,1580
2	2,6919	0,2145	0,7520	2,7267	0,2062	0,2451
3	3,4720	0,3663	1,0546	3,7062	0,2538	0,2344

Comme décrit précédemment :

- le biais est non significatif entre les deux méthodes,
- les limites de répétabilité sont comparables entre les deux méthodes,
- les limites de reproductibilité de la méthode alternative s'avèrent nettement plus satisfaisantes que celles de la méthode de référence.

Annexe 1 : Méthode de référence NF ISO 16649-2

Annexe 2 : Résultats de l'exactitude relative

N° Ech	PRODUIT	Date d'analyse	TBX ♦			PETRIFILM		
			log 1	log 2	moyenne	log 1	log 2	moyenne
A1	Farine de sarrasin	04/01/00	2,02	2,04	2,03	2,04	2,00	2,02
A2	Saucisses de Toulouse	04/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A3	Rôti farci	04/01/00	1,00	1,00	1,00	1,70	1,70	1,70
A4	Croquettes de poisson surgelées	04/01/00	2,88	2,86	2,87	3,00	3,14	3,07
A5	Blanc de poulet décongelé	06/01/00	1,40	1,74	1,57	1,70	1,48	1,59
A6	Blanc de poulet décongelé	06/01/00	1,30	1,65	1,48	1,95	1,90	1,93
A7	Bethmal	06/01/00	1,00	0,70	0,85	1,70	1,85	1,77
A8	Tomme de Savoie	06/01/00	3,37	3,29	3,33	3,19	3,37	3,28
A9	Crème de volaille déshydratée	06/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A10	Escalope	07/01/00	1,18	1,18	1,18	<1	1,30	<1,15
A11	Saucisse	07/01/00	1,60	1,70	1,65	1,78	2,15	1,96
A12	Paupiettes	07/01/00	2,00	1,95	1,98	2,30	2,28	2,29
A13	Crottin de Chavignol	11/01/00	1,65	1,18	1,41	1,48	1,70	1,59
A14	Camembert	11/01/00	4,18	4,40	4,29	4,76	4,76	4,76
A15	Brie de Meaux	11/01/00	3,29	3,44	3,37	3,71	3,74	3,73
A16	Coule d'œuf non pasteurisée	11/01/00	2,40	2,95	2,68	2,95	3,00	2,98
A17	Coule d'œuf non pasteurisée	11/01/00	3,44	3,32	3,38	3,56	3,50	3,53
A18	Coule d'œuf non pasteurisée	11/01/00	2,46	2,54	2,50	2,69	2,80	2,74
A19	Langue de porc	12/01/00	1,30	<1	<1,15	1,78	1,95	1,87
A20	Gorge découennée	12/01/00	2,00	2,00	2,00	2,30	2,60	2,45
A21	Crottin de Chavignol	13/01/00	1,00	<1	<1	1,00	<1	<1
A22	Raclette au lait cru	13/01/00	1,66	1,48	1,57	1,70	2,08	1,89
A23	Tomme du Nevet	13/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A24	Gésiers de poulet crus	13/01/00	1,00	<1	<1	<1	1,70	<1,35
A25	Sardine décongelée	17/01/00	1,00	1,30	1,15	1,30	1,30	1,30
A26	Coquelet	17/01/00	3,02	3,10	3,06	3,95	3,98	3,96
A27	Cœur de poulet	17/01/00	<1	1,18	<1,09	1,95	1,85	1,90
A28	Gésiers de poulet	17/01/00	2,33	2,33	2,33	2,66	2,66	2,66
A29	Lait cru	17/01/00	1,62	1,71	1,66	1,65	1,61	1,63
A30	Coquelet	17/01/00	1,00	<1	<1	2,13	2,08	2,11

♦ Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

N° Ech	PRODUIT	Date d'analyse	TBX ♦			PETRIFILM		
			log 1	log 2	moyenne	log 1	log 2	moyenne
A31	Poulet	20/01/00	1,40	1,60	1,50	1,78	1,78	1,78
A32	Coquelet	20/01/00	1,00	0,66	0,83	1,70	2,04	1,87
A33	Cuisse de poulet	20/01/00	1,18	1,18	1,18	2,13	1,78	1,96
A34	Farine de blé noir	20/01/00	1,65	1,66	1,66	1,78	1,78	1,78
A35	Noix de St jacques surgelées	21/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A36	Pizza au chèvre surgelée	21/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A37	Lait cru	21/01/00	1,68	1,68	1,68	1,69	1,61	1,65
A38	Paupiette	21/01/00	0,66	<1	<0,83	1,70	1,30	1,50
A39	Paupiette	21/01/00	1,13	1,36	1,25	1,95	1,85	1,90
A40	Chair à saucisse	24/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A41	Croque monsieur	24/01/00	1,48	1,40	1,44	1,60	1,48	1,54
A42	Camembert au lait cru	25/01/00	4,66	4,67	4,67	4,81	4,73	4,77
A43	Lait cru	25/01/00	1,72	1,85	1,78	1,97	2,03	2,00
A44	Brie au lait cru	25/01/00	3,49	3,50	3,50	3,63	3,56	3,60
A45	Munster fermier	25/01/00	3,73	3,76	3,74	3,76	3,80	3,78
A46	Munster	25/01/00	1,00	<1	<1	<1	<1	<1
A47	Purée de pomme de terre surgelée	26/01/00	2,06	2,04	2,05	2,00	1,85	1,92
A48	Purée d'épinard surgelée	26/01/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A49	Merguez	26/01/00	2,58	2,51	2,55	2,59	2,64	2,62
A50	Merguez	26/01/00	2,49	2,53	2,51	2,66	2,63	2,64
A51	Merguez	26/01/00	2,72	2,71	2,72	2,92	2,97	2,95
A52	Merguez	26/01/00	2,53	2,56	2,54	2,64	2,53	2,58
A53	Merguez	26/01/00	2,44	2,39	2,41	2,69	2,67	2,68
A54	Crêpinettes	27/01/00	<1	<1	<1	<1	1,00	<1
A55	Crêpinettes	27/01/00	0,66	1,00	0,83	1,00	1,00	1,00
A56	Crêpinettes	27/01/00	<1	1,18	<1,09	1,30	<1	<1,15
A57	Chipolatas	27/01/00	0,66	0,66	0,66	<1	1,60	<1,30
A58	Chipolatas aux herbes	27/01/00	<1	1,30	<1,15	1,48	1,00	1,24
A59	Camembert au lait cru	01/02/00	1,56	1,77	1,67	1,60	1,00	1,30
A60	Munster	01/02/00	2,00	2,18	2,09	2,36	2,26	2,31
A61	Bethmal	01/02/00	0,70	1,18	0,94	<1	<1	<1
A62	Lait cru	01/02/00	-0,04	0,26	0,11	0,48	0,26	0,37
A63	Lait cru	01/02/00	0,70	0,50	0,60	0,70	0,56	0,63
A64	Reblochon au lait cru	01/02/00	1,00	0,70	0,85	1,00	1,30	1,15
A65	Poivrons rouges en dés	02/02/00	1,00	<1	1,00	1,60	1,78	1,69

N° Ech	PRODUIT	Date d'analyse	TBX ♦			PETRIFILM		
			log 1	log 2	moyenne	log 1	log 2	moyenne
A66	Merguez	02/02/00	0,66	1,40	1,03	1,30	1,85	1,57
A67	Crépinette	02/02/00	<1	<1	<1	1,00	<1	<1
A68	Saucisse de Toulouse	02/02/00	0,66	1,18	0,92	1,30	1,48	1,39
A69	Chipolatas	02/02/00	<1	0,66	<1,33	1,00	<1	<1
A70	Pousses de soja	03/02/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A71	Foie de canard	04/02/00	2,85	2,92	2,89	3,00	2,94	2,97
A72	Cœur de poulet	04/02/00	2,23	2,04	2,13	2,74	2,76	2,75
A73	Gésiers de poulet	04/02/00	1,00	0,66	0,83	1,00	1,00	1,00
A74	Escalope de dinde	04/02/00	1,70	1,48	1,59	1,86	2,04	1,95
A75	Chipolatas aux herbes	04/02/00	1,18	0,66	0,92	1,48	1,60	1,54
A76	Chou	08/02/00	1,65	1,74	1,70	3,13	3,11	3,12
A77	Scarole	08/02/00	2,81	2,79	2,80	3,09	2,98	3,03
A78	Poivron vert	08/02/00	2,47	2,34	2,40	2,44	2,36	2,40
A79	Poivron rouge	08/02/00	2,04	2,02	2,03	1,95	2,16	2,06
A80	Persil	08/02/00	3,05	3,05	3,05	2,98	3,02	3,00
A81	Radis	08/02/00	2,06	1,93	2,00	2,04	2,00	2,02
A82	Pomme de terre	08/02/00	2,00	1,98	1,99	2,15	2,08	2,11
A83	Lait cru	09/02/00	4,28	4,39	4,34	5,12	5,07	5,10
A84	Lait cru	09/02/00	3,05	3,02	3,04	2,94	2,85	2,90
A85	Lait cru	09/02/00	0,94	1,26	1,10	1,26	1,37	1,32
A86	Lait cru	09/02/00	3,81	3,90	3,86	4,48	4,52	4,50
A87	Lait cru	09/02/00	1,83	1,73	1,78	1,00	1,11	1,06
A88	Lait cru	09/02/00	0,50	0,66	0,58	0,66	1,37	1,02
A89	Pintade	14/02/00	1,98	2,00	1,99	2,42	2,57	2,50
A90	Coquelet	14/02/00	1,48	1,88	1,68	2,32	2,21	2,27
A91	Escalope de poulet	14/02/00	1,18	0,66	0,92	<1	1,00	<1
A93	Escalope de poulet	15/02/00	1,98	1,90	1,94	2,11	2,20	2,16
A94	Escalope de dinde	15/02/00	2,37	2,43	2,40	2,78	2,75	2,76
A95	Foie de poulet	15/02/00	3,35	3,37	3,36	4,76	4,71	4,73
A96	Fromage blanc	17/02/00	2,73	2,65	2,69	2,70	2,37	2,54
A97	Epinards surgelés	17/02/00	1,48	1,54	1,51	2,20	2,36	2,28
A98	Fromage de brebis	17/02/00	<1	<1	<1	1,00	1,00	1,00
A99	Gros lait	21/02/00	1,78	1,40	1,59	1,70	1,60	1,65
A100	Fromage blanc	21/02/00	1,98	1,70	1,84	1,85	1,30	1,57
A101	Gros lait	21/02/00	2,06	2,10	2,08	1,60	1,30	1,45

N° Ech	PRODUIT	Date d'analyse	TBX ♦			PETRIFILM		
			log 1	log 2	moyenne	log 1	log 2	moyenne
A102	Crème	21/02/00	1,85	2,04	1,94	2,08	1,70	1,89
A103	Crème fraîche	21/02/00	2,13	2,10	2,11	2,04	2,08	2,06
A104	<i>Choux de Bruxelles surgelés</i>	22/02/00	1,70	1,78	1,74	2,08	2,16	2,12
A105	<i>Poêlée forestière surgelée</i>	22/02/00	1,70	1,40	1,55	2,15	2,04	2,09
A106	<i>Légumes pour couscous surgelés</i>	22/02/00	1,18	1,00	1,09	1,48	1,78	1,63
A107	<i>Poêlée méridionale surgelée</i>	22/02/00	<1	1,00	<1	1,00	1,00	1,00
A108	<i>Epinards surgelés</i>	22/02/00	1,95	1,74	1,85	2,26	1,95	2,11
A109	<i>Légumes pour ratatouille surgelés</i>	22/02/00	<1	<1	<1	<1	1,00	<1
A110	<i>Chipolatas</i>	23/02/00	2,33	2,32	2,33	2,54	2,41	2,47
A111	Pintade	23/02/00	<1	0,70	<0,85	2,19	1,90	2,05
A112	<i>Saucisse de Toulouse</i>	23/02/00	1,94	2,02	1,98	2,32	2,28	2,30
A113	Filet de dinde	23/02/00	1,30	1,48	1,39	1,70	1,48	1,59
A114	Escalope de poulet	23/02/00	<1	<1	<1	<1	1,00	<1
A115	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	1,54	1,60	1,57	1,60	1,60	1,60
A116	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	0,70	1,18	0,94	1,60	1,60	1,60
A117	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	1,54	1,18	1,36	1,30	1,00	1,15
A118	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	1,18	1,00	1,09	1,60	1,60	1,60
A119	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	1,00	1,48	1,24	1,30	1,60	1,45
A120	Coule d'œuf non pasteurisée	28/02/00	1,30	1,48	1,39	1,78	1,60	1,69
A121	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,18	1,30	1,24	1,48	1,70	1,59
A122	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,60	1,40	1,50	1,30	1,78	1,54
A123	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,00	1,30	1,15	1,48	1,70	1,59
A124	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,18	1,18	1,18	1,30	1,48	1,39
A125	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,88	1,40	1,64	1,85	1,90	1,87
A126	Coule d'œuf non pasteurisée	29/02/00	1,40	1,18	1,29	1,60	1,60	1,60
A127	Coques	02/03/00	<1	<1	<1	1,30	1,30	1,30
A128	Coques	02/03/00	<1	<1	<1	<1	1,00	<1
A129	<i>Graines de blé noir</i>	02/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A130	<i>Epinards en branches surgelés</i>	09/03/00	<1	<1	<1	1,60	1,48	1,54
A131	<i>Poivrons rouges</i>	09/03/00	1,18	1,40	1,29	1,60	1,48	1,54
A132	<i>Saumon fumé</i>	09/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A133	Amande de mer	29/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A134	Palourdes	29/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A135	coques	29/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A136	Huîtres	29/03/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1

N° Ech	PRODUIT	Date d'analyse	TBX [♦]			PETRIFILM		
			log 1	log 2	moyenne	log 1	log 2	moyenne
A137	Poêlée de légumes	30/03/00	2,15	2,21	2,18	2,64	2,66	2,65
A138	Choux de Bruxelles	30/03/00	2,34	2,24	2,29	2,54	2,64	2,59
A139	Epinards	30/03/00	2,29	2,18	2,23	2,82	2,71	2,77
A140	Légumes pour couscous	30/03/00	1,91	1,74	1,82	2,57	2,59	2,58
A141	Légumes pour couscous	31/03/00	4,22	4,33	4,27	4,21	4,23	4,22
A142	Choux de Bruxelles	31/03/00	4,45	4,62	4,54	4,43	4,54	4,49
A143	Epinards	31/03/00	3,74	3,74	3,74	3,68	3,75	3,72
A144	Poêlée de légumes	31/03/00	4,19	4,08	4,13	3,94	3,86	3,90
A145	Palourdes	26/05/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A146	sardines	26/05/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A147	Maquereau	26/05/00	<1	<1	<1	<1	<1	<1
A148	Moules	26/05/00	2,16	2,12	2,14	2,60	2,44	2,52
A149	Palourdes	26/05/00	2,12	2,19	2,15	2,58	2,50	2,54
A150	Sardines	26/05/00	1,54	1,81	1,68	1,00	1,78	1,39
A151	Moules	26/05/00	2,53	2,42	2,47	2,59	2,59	2,59
A152	Maquereau	26/05/00	1,48	1,00	1,24	1,30	1,30	1,30
A153	Coques	26/05/00	1,18	1,30	1,24	1,30	1,78	1,54
A154	Moules	26/05/00	0,66	1,00	0,83	1,00	1,30	1,15
A155	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	2,76	2,81	2,79	2,96	2,91	2,94
A156	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	3,44	3,42	3,43	3,42	3,45	3,44
A157	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	3,35	3,48	3,41	3,26	3,36	3,31
A158	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	3,30	3,24	3,27	3,36	3,45	3,40
A159	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	2,51	2,62	2,57	2,73	2,73	2,73
A160	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	3,19	3,26	3,23	3,32	3,26	3,29
A161	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	2,59	2,63	2,61	2,63	2,72	2,68
A162	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	2,64	2,65	2,64	2,82	2,86	2,84
A163	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	2,72	2,71	2,72	2,70	2,71	2,70
A164	Coule d'œuf non pasteurisée	29/05/00	3,03	3,02	3,03	2,98	3,04	3,01

Données non prises en compte dans l'interprétation (flore totale supérieure à 300 colonies sur les boîtes)

Caractère en italique

Echantillons pour lesquels une incubation de 4 h à 37°C a été réalisée pour les boîtes de TBX avant transfert à 44°C (norme ISO 16649-2 : Protocole micro-organismes stressés).

Annexe 3 : Résultats de la spécificité et de la sélectivité

□ Souches cibles

Souche		PCA	Petrifilm Select E.coli			ISO 16649-2		
Référence	Origine	log ufc/ml	a (log ufc/ml)	b (log ufc/ml)	Aspects colonies	a (log ufc/ml)	b (log ufc/ml)	Aspects colonies
E.coli 1	Saucisse de Toulouse	9,11	8,99	9,13	Bleues	9,12	8,98	Bleues
E.coli 9	Rillettes d'oie	9,00	8,93	8,89	Bleues	9,14	9,13	Bleues
E.coli 12	Viande fibrée de dinde	8,95	8,85	8,81	Blanches	9,03	9,29	Blanches
E.coli 13	Steak haché	8,94	8,78	8,88	Bleues	8,95	8,93	Bleues
E.coli 14	Lait cru	8,92	9,06	8,99	Bleues	9,05	8,97	Bleues
E.coli 17	Eau de source	9,18	9,12	9,13	Bleues	9,1	9,03	Bleues
E.coli 18	Eau	8,90	9,15	8,88	Bleues turquoise	8,95	8,96	Bleues turquoise
E.coli 19	Carottes râpées	8,86	8,85	8,88	Bleues	9,85	8,94	Bleues
E.coli 21	Poitrine demi-sel	8,85	8,79	8,88	Bleues	9,8	8,89	Bleues
E.coli 70	VSM	9,11	9,08	9,1	Bleues	9,04	8,97	Bleues
E.coli 91	Tomate farcie	9,88	>9,48	>9,48	Blanches	>9,48	>9,48	Blanches
E.coli 94	Bethmal	9,04	8,96	8,92	Bleues	8,99	8,94	Bleues
E.coli 96	Escalope de dinde	8,77	8,72	8,81	Bleues	8,76	8,86	Bleues
E.coli 97	Bleu de Causse	9,04	9,03	8,95	Bleues	8,94	8,89	Bleues
E.coli 101	Cervelle de porc	8,98	8,56	8,63	Bleues	8,92	8,95	Bleues
E.coli 108	Bouchée à la reine	9,04	8,88	8,92	Bleues	8,93	8,84	Bleues
E.coli 118	Lait cru	8,72	9,17	8,92	Bleues turquoise	<7,00	<7,00	
E.coli 121	Raclette	8,99	8,64	8,44	Bleues turquoise	8,98	8,97	Bleues turquoise
E.coli 123	Foie de veau	9,32	8,28	8,46	Bleues turquoise	9,44	9,39	Bleues turquoise
E.coli 125	Foie de porc	8,79	9,16	8,92	Bleues turquoise	8,76	8,81	Bleues turquoise
E.coli 142	Coule d'œuf	8,96	9,30	9,03	Bleues turquoise	9,09	9,09	Bleues vertes très pâles
E.coli 143	Mayonnaise	8,89	8,87	8,77	Bleues	8,68	8,61	Bleues pâles
E.coli 144	Paella	9,04	9,14	8,91	Bleues turquoise	8,99	8,95	Blanches avec bord bleu vert très pâle
E.coli 2B	Saucisse	8,80	9,18	8,90	Bleues turquoise	8,92	8,94	Bleues turquoise
E.coli 43888 CIP		8,86	8,52	9,71	Blanches	8,71	8,95	Blanches
E.coli 54117 CIP		9,04	8,73	8,76	Bleues	8,89	8,81	Bleues
E.coli 54127 CIP		9,08	8,99	9,08	Bleues	8,96	9,01	Bleues
E.coli 7624 CIP		9,08	9,11	9,08	Bleues	9,14	9,06	Bleues
E.coli Ad222	Coule d'œuf	9,08	9,33	9,09	Bleues turquoise	9,15	9,15	Bleues turquoise pâles
E.coli Ad228	Poisson	8,74	9,39	9,16	Bleues turquoise	9,11	9,14	Bleues turquoise
E.coli Ad233	Viande crue de veau	9,15	9,38	9,07	Bleues turquoise	9,19	9,10	Bleues turquoise

□ **Souches non cibles**

Souche		PCA	Petrifilm Select E.coli			ISO 16649-2		
Référence	Origine	log ufc/ml	a (log ufc/ml)	b (log ufc/ml)	Aspects colonies	a (log ufc/ml)	b (log ufc/ml)	Aspects colonies
Bacillus subtilis 630	Produit laitier	7,45	<5,00	<5,00		<5,00	<5,00	
Buttiaux agrestis 115	Navets	8,74	<6,00	<6,00		8,69	8,70	Blanches
Citrobacter diversus 140	Lait cru	9,11	<6,00	<6,00		9,23	9,23	Blanches
Citrobacter freundii 23	Saucisse de Toulouse	8,99	<6,00	<6,00		8,76	8,76	Blanches
E. vulneris 127	Lait cru fermier	8,30	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
E.hermanii 395	Matière première viande	8,96	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
E.vulneris 132	Foie de veau	8,30	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
E.vulneris 134	Foie	8,32	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Enterobacter aerogenes CIP 6086		8,57	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Enterobacter agglomerans 62	Haricots plats	8,32	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Enterobacter amnigenus 129	Lait cru fermier	8,52	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Enterobacter amnigenus 52	Haricots plats	8,81	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Enterococcus faecalis 25	Produit laitier	9,00	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Erwinia carotovora CIP 103762		7,54	<5,00	<5,00		<5,00	<5,00	
Klebsiella oxytoca CIP 7932		8,57	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Klebsiella pneumoniae 114	Navets	9,00	<6,00	<6,00		8,89	8,87	Blanches
Lactobacillus casei casei 91L353		8,38	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Proteus vulgaris 56	Alimentaire	8,54	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Rhanella aquatilis 69	Coquillages	8,86	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Serratia liquefaciens 26	Œuf	8,58	<6,00	<6,00		<6,00	<6,00	
Shigella flexneri CIP 8248		8,58	8,28	8,41	Blanches	8,62	8,15	Blanches

Annexe 4 - Liste des laboratoires collaborateurs

Laboratoire	Adresse	Ville	Contact
Laboratoire Commissariat Armée de Terre	88 Avenue Jean BOUTTON	49130 LES PONTS DE CE	Madame CHEVALIER
AGRO QUALITE SERVICE	Boulevard Tra Le Bos	19300 EGLETONS	Madame PERRIER
Laboratoire départemental d'Analyses 24	161 Avenue W CHURCHIL	24660 COULOUNIEIX CHAMIERES	Monsieur DELORME
Centre de Recherche et d'Analyses (Larebron)	76, route du Rhin BP 24	67401 ILLKIRCH CEDEX	Mademoiselle Fanny BERENGUEL
Institut Pasteur - labo Sermha	Domaine du Certia BP 39	59651 VILLENEUVE D'ASCQ	Madame EWE
Labo CAT Armées	route de Jouy Aux Arches	57160 MOULINS LES METS	Monsieur le Commandant Briand
Agro alim conseil	42 rue des Bordes	71500 LOUHANS	Madame MARTIN Marie-Thérèse
Laboratoire Départemental 74 LIDAL	22 rue du Pré Fonet	74006 SEYNOD cedex	Madame DELERY
ALIZE	1 rue Hermann Frenkel	69364 LYON CEDEX 07	Madame GARONI Dominique
Lilano	23 rue Auguste Grandin	50008 SAINT LO	Mademoiselle LEVERGNER Sylvie
ALCONTROL CERVAC	33, rue Lavoisier	35230 NOYAL CHATILLON SUR SEICHE	Madame Christelle RAFFIN
LEHA (Laboratoire d'étude et d'hygiène alimentaire)	Chemin Les Tertres noirs	35505 Vitré cedex	Madame Mélanie LECLERC
Laboratoire départemental 66	Rembla de la Technodynamique	66000 PERPIGNAN	Mademoiselle Alexandra DEDY
Laboratoire départemental 15	100 rue de l'Egalité	15000 AURILLAC	Madame PARISOT