

ETUDE DE RECONDUCTION SELON LA NORME ISO 16140
DE LA VALIDATION AFAQ AFNOR CERTIFICATION
DU TEST 3M TECRA UNIQUE *SALMONELLA*
POUR LA DETECTION RAPIDE DES SALMONELLES DANS
LES PRODUITS D'ALIMENTATION HUMAINE ET ANIMALE

Rapport de synthèse

Ce rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis aux analyses. Sa reproduction n'est autorisée que sous forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 24 pages.

Seuls certains essais rapportés dans ce document sont couverts par l'accréditation de la Section Laboratoire du COFRAC. Ils sont identifiés par le symbole (*)

Essais réalisés à l'ISHA : 25, avenue de la République 91300 Massy

Fabricant : **3M Australia Pty Ltd**

3 Rodborough Rd
Frenchs Forest, New South
Wales, 2086, AUSTRALIA

Responsable de l'étude : **3M Santé**

Département microbiologie
Boulevard de l'Oise
95029 Cergy-Pontoise Cedex

Laboratoire expert : **I. S. H. A.**

25, avenue de la République
91300 MASSY

En vue de la reconduction de la validation AFAQ AFNOR
Certification selon la norme NF EN ISO 16140
du test 3M Tecra Unique *Salmonella*
pour la détection des salmonelles avec confirmation.

1 – INTRODUCTION	4
1.1 Objectif	4
1.2 Méthode alternative	4
1.3 Méthode de référence (*)	7
1.4 Domaine d'application	7
2 – RAPPEL DES RESULTATS DE VALIDATION OBTENUS EN 2003	8
2.1 Etude préliminaire	8
2.2 Etude collaborative	8
3 – ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	9
3.1 Autres validations	9
3.2 Publications	9
3.3 Bilan des réclamations utilisateurs	9
4– ETUDE PRELIMINAIRE (ETUDE DE RECONDUCTION) ET ESSAIS COMPLEMENTAIRES.....	9
4.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative de la méthode alternative et de la méthode de référence	9
4.1.1 <u>Nombre et nature des échantillons</u>	9
4.1.2 <u>Protocole d'essai</u>	10
4.1.3 <u>Résultats</u>	10
4.2 Niveau de détection relatif de la méthode alternative et la méthode de référence.....	13
4.2.1 <u>Protocole d'essai</u>	13
4.2.2 <u>Résultats</u>	14
4.2.3 <u>Conclusion</u>	14
4.3 Sélectivité	14
4.3.1 <u>Protocole d'essai</u>	14
4.3.2 <u>Résultats</u>	14
4.4 Essais complémentaires.....	15
4.4.1 <u>Exactitude</u>	15
4.4.2 <u>Sélectivité</u>	15
5 – ETUDE COLLABORATIVE.....	16
5.1 Mise en oeuvre de l'étude collaborative	16
5.1.1 <u>Laboratoires collaborateurs</u>	16
5.1.2 <u>Vérification de l'absence de <i>Salmonella</i> spp dans la matrice utilisée</u>	16
5.1.3 <u>Stabilité de la souche dans la matrice lait pasteurisé</u>	16
5.1.4 <u>Préparation et inoculation des échantillons</u>	16
5.1.5 <u>Etiquetage des échantillons</u>	17
5.1.6 <u>Expédition des échantillons</u>	17
5.1.7 <u>Réception et analyse des échantillons par les laboratoires collaborateurs</u>	17
5.2 Résultats	18
5.2.1 <u>Température et état des échantillons à réception</u>	18
5.2.2 <u>Dénombrements de la flore totale</u>	18
5.2.3 <u>Résultats du laboratoire expert</u>	19
5.2.4 <u>Résultats des laboratoires collaborateurs</u>	19
6 - CONCLUSION GENERALE.....	24

1 – INTRODUCTION

Le test Tecra Unique *Salmonella* a été validé en 2003 selon l'ancien référentiel relatif aux études préliminaire et collaborative pour la validation AFNOR des méthodes alternatives (révision 7).

Aucune modification n'a été apportée au test depuis la dernière validation.

1.1 Objectif

Cette étude de reconduction a pour but d'évaluer les performances du test Tecra Unique *Salmonella* par rapport à la méthode de référence pour l'ensemble des produits d'alimentation humaine et animale selon la norme NF EN ISO 16140.

Les caractéristiques suivantes sont étudiées :

- Détermination de l'exactitude relative, sensibilité relative et spécificité relative de la méthode alternative et de la méthode de référence,
- Détermination du niveau de détection relatif de la méthode alternative et de la méthode de référence,
- Etude de la sélectivité de la méthode alternative (inclusivité).

Remarque : pour l'évaluation de AC, SE et SP, les données de validation 2003 ont été utilisées avec un complément d'essais.

1.2 Méthode alternative

La méthode Tecra Unique *Salmonella* offre une détection *in vitro* rapide des salmonelles dans les produits d'alimentation humaine et animale.

La première étape du test consiste à transférer l'échantillon pré-enrichi en eau peptonée tamponnée modifiée dans le tube n°1 du module dans lequel le bâtonnet est ensuite déposé. Hautement spécifiques, les anticorps se trouvant à la surface du bâtonnet capturent de manière sélective les salmonelles présentes. Après un lavage dans le tube 2, le bâtonnet est transféré vers le tube 3 et incubé dans un bouillon d'enrichissement. Les salmonelles capturées sur le bâtonnet vont alors se multiplier jusqu'à un niveau détectable. Le bâtonnet est alors transféré vers le tube 4 qui contient les anticorps liés à une enzyme (conjugué) spécifique des salmonelles. Le conjugué va s'accrocher aux salmonelles présentes sur le bâtonnet.

L'excès de conjugué est éliminé par lavage du bâtonnet dans le tube 5, le bâtonnet est alors transféré vers le tube 6 contenant un substrat de l'enzyme. En présence de salmonelles, une couleur ombrage gris à violet à la position 4 du bâtonnet est observée et en absence de contamination, aucune coloration n'est observée à cette position. Pour un résultat valide, le témoin positif (position 1 sur le bâtonnet) doit avoir une couleur ombrage gris à violet et le témoin négatif (position 2 sur le bâtonnet) doit être incolore.

Un automate peut être utilisé pour réaliser l'ensemble des étapes du test jusqu'à la lecture.

Deux protocoles sont mis en œuvre pour le test :

- 1- Protocole général, avec un pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée modifiée à (37 ± 1) °C de 16 à 20 heures.
- 2- Protocole spécifique (viandes crues, alimentation animale et ovo-produit), avec un pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée modifiée additionnée de 1/20 de supplément TECRA +2.25 ml d'Imbentin AGS/35 chauffé à (42 ± 1) °C de 16 à 20 heures.

Remarque :

Durant l'étude de validation, une partie des essais a été réalisée en mode manuel avec une lecture visuelle et une autre partie en mode automatique, dans ce cas la lecture a été effectuée par l'automate et visuellement.

Figure 1 : Protocole général de la méthode alternative

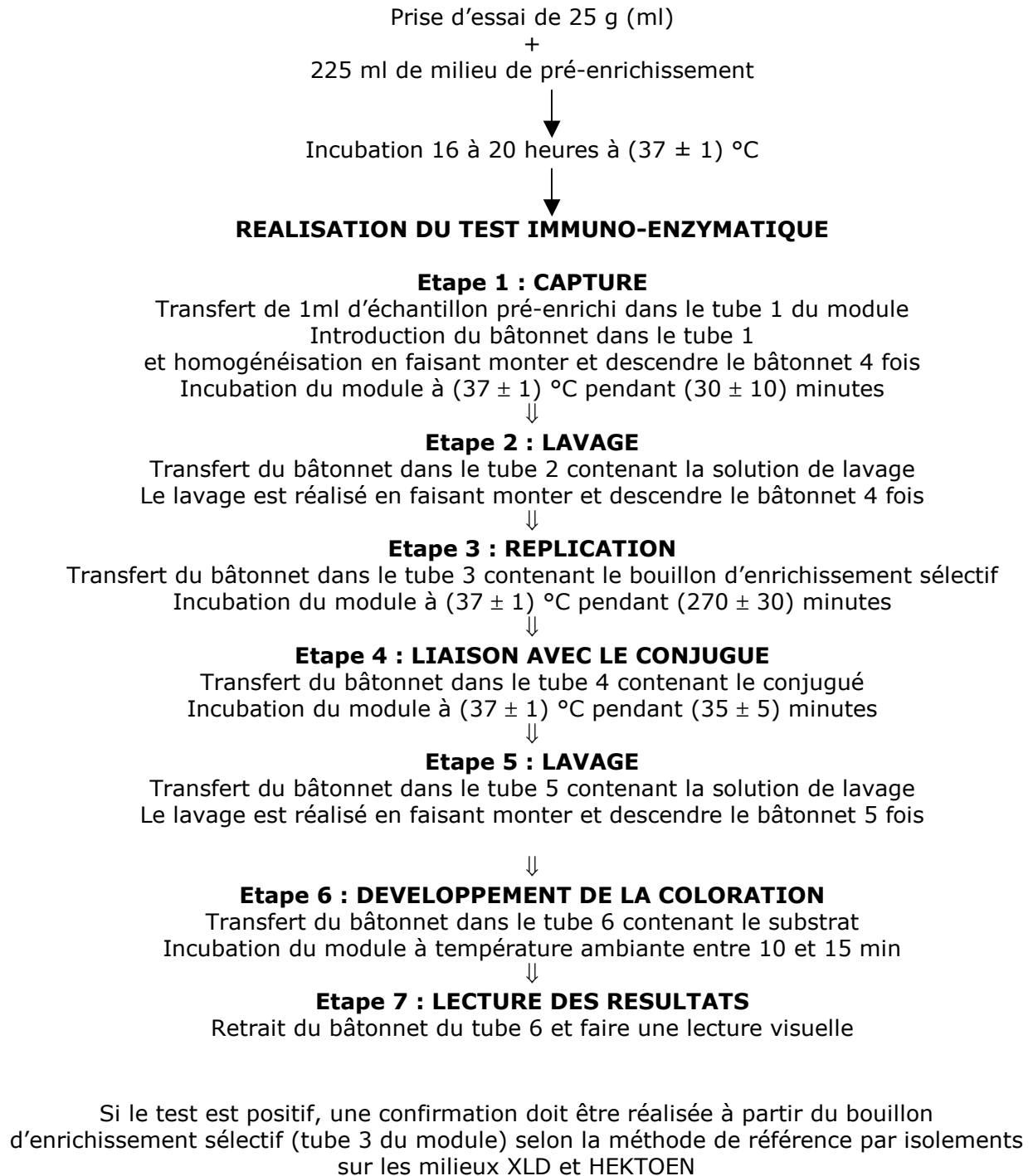
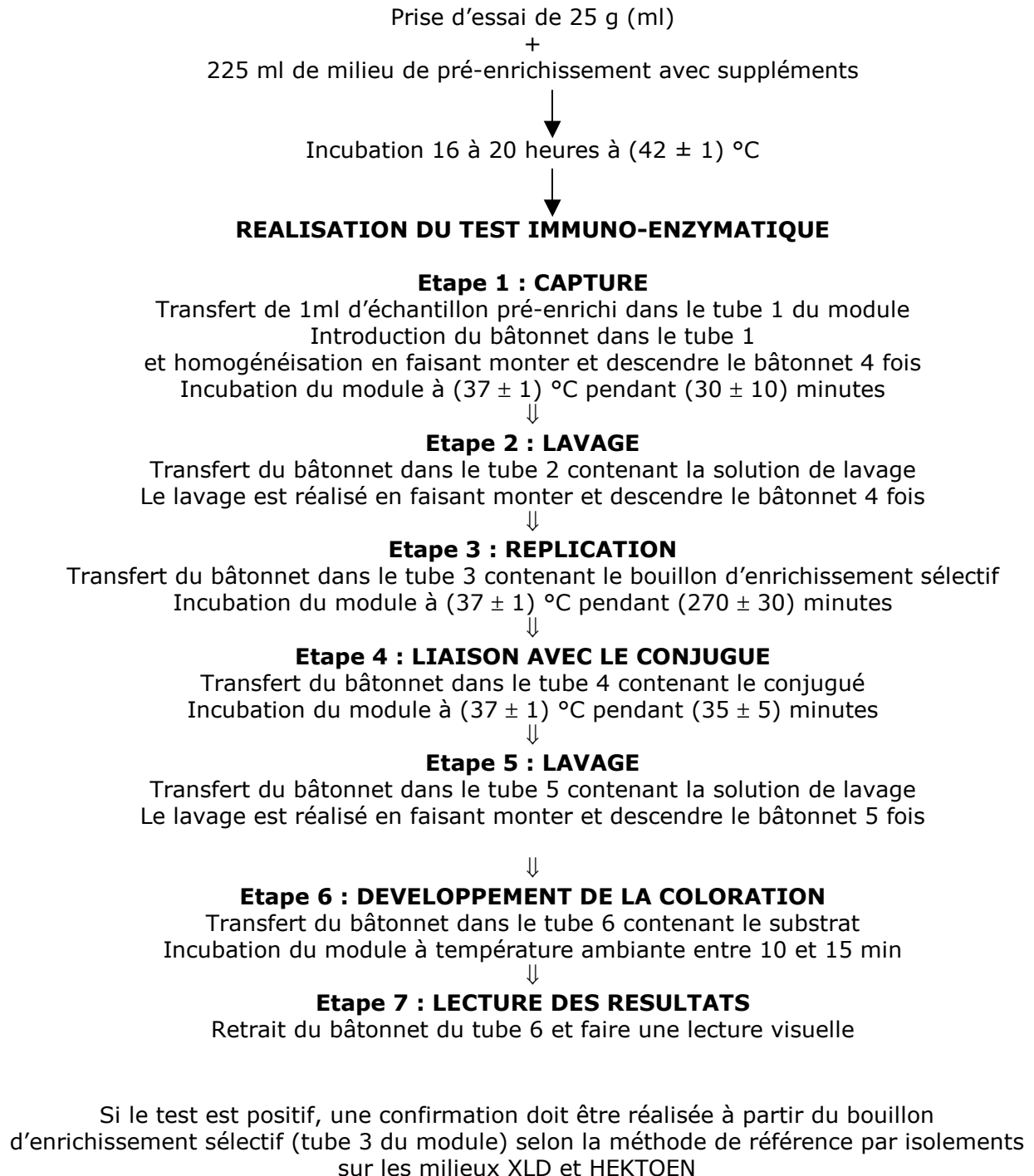


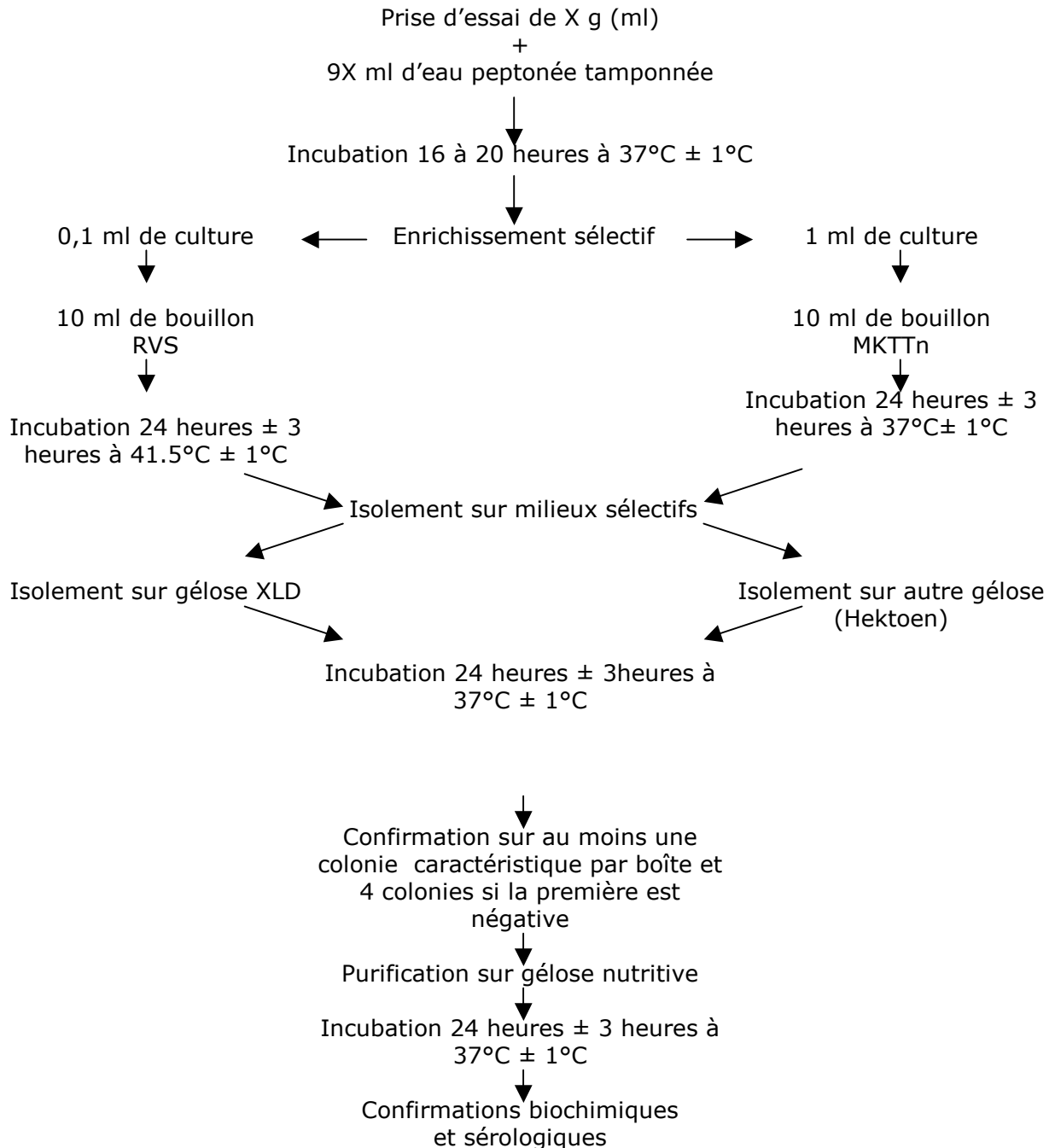
Figure 2 : Protocole spécifique de la méthode alternative



1.3 Méthode de référence (*)

Norme NF EN ISO 6579 (2002), méthode horizontale pour la recherche des *Salmonella* spp a été utilisée pour l'étude comparative.

FIGURE 3 : Protocole de la méthode de référence



1.4 Domaine d'application

Tous produits d'alimentation humaine et animale.

2 – Rappel des résultats de validation obtenus en 2003

2.1 Etude préliminaire

Etude de justesse

Au total 261 échantillons ont été analysés par les 2 méthodes dont 26,15 % des échantillons positifs étaient contaminés naturellement.

Le pourcentage de concordance entre les 2 méthodes est de 98,85, dû à 2 résultats faux négatifs (1 échantillon de viande de dinde et un échantillon de coule d'œuf naturellement contaminés) et 1 résultat positif supplémentaire (1 échantillon de coule d'œuf contaminé naturellement). Tous les résultats positifs ont été confirmés.

Résultat pour l'ensemble des catégories

METHODE DE REFERENCE	Nombre d'échantillons positifs	Nombre d'échantillons négatifs	TOTAL
METHODE ALTERNATIVE			
Nombre d'échantillons positifs	127	1	128
Nombre d'échantillons négatifs	2	131	133
TOTAL	129	132	262

Limite de détection des deux méthodes

Aucune discordance n'a été observée entre la méthode de référence et la méthode alternative et ceci quelles que soient la matrice et la souche utilisées sauf pour les matrices ovoproduit et lait cru. La souche *S. Virchow* a donné un résultat négatif pour les faibles taux (3 cellules/25 grammes de produit) dans les œufs entiers et la souche *S. Typhimurium* a donné un résultat négatif pour une des deux répétitions des faibles taux (7 cellules/25 grammes de produit) dans le lait cru et ceci pour la méthode alternative.

Les taux les plus faibles testés (de 2 à 8 cellules /25 grammes de produit) ont été détectés. Tous les résultats positifs ont été confirmés à partir de chacun des 2 milieux sélectifs d'isolement.

Sélectivité

Les résultats obtenus au cours de différentes études ont été repris par le laboratoire expert. Des essais complémentaires avec les sérovars Typhi, Paratyphi A et Paratyphi B ont été réalisés dans le cadre de cette étude. Les souches testées ont donné un résultat positif au test.

Praticabilité

La praticabilité est étudiée en suivant les 13 critères décrits dans les exigences relatives aux études préliminaire et collaborative de l'AFNOR.

Le test Unique Tecra *Salmonella* permet l'obtention de résultats dans des délais plus courts que ceux obtenus par la méthode de référence.

2.2 Etude collaborative

L'étude collaborative a été réalisée par le laboratoire expert et 11 laboratoires collaborateurs selon le référentiel existant.

La matrice « lait pasteurisé » a été inoculée avec une souche *Salmonella* Enteritidis.

11 laboratoires ont analysé 264 échantillons selon 3 protocoles et le taux de concordance est de 99,63%.

3 – Etude bibliographique

3.1 Autres validations

Le test Tecra Unique *Salmonella* n'a pas obtenu d'autres validations.

3.2 Publications

Aucune publication n'a été soumise concernant ce test.

3.3 Bilan des réclamations utilisateurs

Aucune réclamation n'a été enregistrée.

4– Etude préliminaire (étude de reconduction) et essais complémentaires

L'ensemble des essais effectués avec la méthode alternative a été réalisé avec la limite inférieure de temps d'incubation. Les confirmations selon la méthode de référence ont été réalisées pour tous les résultats présumés positifs.

4.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative de la méthode alternative et de la méthode de référence

L'objectif de cette étude est d'évaluer les performances des deux méthodes sur des échantillons contaminés ou non contaminés. Les analyses sont réalisées en simple avec les 2 méthodes et les échantillons répartis dans les principales catégories de produits alimentaires.

Les essais supplémentaires réalisés lors de cette étude portent sur :

- 10 échantillons ovoproduits
- 10 échantillons produits de la mer et végétaux
- 15 échantillons produits laitiers
- 40 échantillons d'alimentation animale

A la demande du Bureau Technique, l'étude d'exactitude a été complétée en testant des souches de *S. Infantis* dans les matrices ovoproduits et produits carnés crus ainsi que des souches de *S. Gallinarum* sur des échantillons de volaille crue.

4.1.1 Nombre et nature des échantillons

329 échantillons ont été analysés, les catégories et les types de matrices sont répertoriés dans le tableau suivant.

Catégories	Types	Nombre de positifs *		Nombre de négatifs		Total
		2003	2007	2003	2007	
Produits carnés	Viandes crues	10	4	13	1	28
	Volaille	7	2	8	4	21
	Charcuterie	10	3	10	-	23
	Total	36		36		72
Produits de la mer et végétaux	Poissons crus	7	4	8	-	19
	Autres produits de la mer	14	3	22	-	39
	Végétaux	-	4	-	-	4
	Total	32		30		62
Produits laitiers	Fromages au lait cru et lait cru	3	8	9	-	20
	Fromages pasteurisés	11	5	16	-	32
	Laits et poudres de lait	2	3	5	-	10
	Total	32		30		62
Ovoproduits	Produits crus	20	6	12	6	44
	Mayonnaise	2	1	8	-	11
	Autres	2	6	10	-	18
	Total	37		36		73
Alimentation animale	Tourteaux et farines	-	9	1	7	17
	Granulés et croquettes	3	6	4	8	21
	Terrines et pâtées	7	6	5	4	22
	Total	31		29		60

* Résultats positifs par l'une ou l'autre des deux méthodes

4.1.2 Protocole d'essai

Chacun des échantillons est analysé en simple par la méthode de référence et la méthode alternative. Pour chaque échantillon, deux prises d'essai de 25 grammes sont réalisées car les 2 méthodes n'ont pas d'étape commune.

Dans le cas de contamination artificielle, différents types de stress ont été utilisés et chaque prise d'essai a été inoculée individuellement avec la même suspension bactérienne (voir tableau suivant).

Type de stress	Souche	Origine	Log N (MNS) - - log N (MS)
20 min à 50°C ^a	S. Dublin (S59)	Lait	0,75
3 j à -20°C - 15 min à 50°C ^a	S. Enteritidis (S63)	Moules	1,00
20 min à 50°C - 20j à 4°C ^a	S. Agona (I26)	Industrie laitière	0,50
25 min à 50°C ^a	S. Enteritidis (S38)	Ovoproduit	0,70
20 min à 50°C - 20j à 4°C ^a	S. Indiana (S55)	Filet de bœuf	0,50
25 min à 50°C ^a	S. Montevideo (S75)	Tartare de bœuf	1,20
15 jours à -20°C ^a	S. Bredeney(S66)	Blanc de poulet	0,50
20 min à 52°C puis 10 min à 50°C ^a	S. Gallinarum (Sal 1.170)	Envt élevage pintade	0,49
2 cycles de congélation à -20°C décongélation ^a	S. Gallinarum (Sal 1.171)	Elevage poule	0,75
20 min à 52°C puis 20 min à 50°C ^a	S. Gallinarum (Sal 1.172)	Elevage poussin	0,80
20 min à 52°C ^a	S. Gallinarum (Sal 1.173)	Envt élevage volaille	0,53
20 min à 52°C puis 10 min à 50°C ^a	S. Infantis (Sal 1.163)	Lait	0,51
20 min à 52°C ^a	S. Infantis (Sal 1.164)	Viande de porc	0,48
2 cycles de congélation à -20°C décongélation ^a	S. Infantis (Sal 1.165)	Saucisson cru	0,54
20 min à 52°C puis 20 min à 50°C ^a	S. Infantis (Sal 1.166)	Blanc de poulet	0,56
3 jours à -20°C	S. Enteritidis (S38)	Ovoproduit	0,53
3 jours à 4°C	S. Enteritidis (S38)	Ovoproduit	0,52
3 jours à -20°C	S. Typhimurium (S15)	Bœuf haché	0,55
3 jours à 4°C	S. Typhimurium (S15)	Bœuf haché	0,48
3 jours à -20°C	S. Virchow (R33)	CIP 105355	0,61
3 jours à 4°C	S. Virchow (R33)	CIP 105355	0,53

a : Stress réalisés lors de l'étude de reconduction

4.1.3 Résultats

Au total, 329 échantillons ont été analysés par les 2 méthodes.

L'interprétation des résultats est réalisée à partir des 229 échantillons analysés lors de l'étude de 2003 ainsi que les 100 nouvelles données issues de cette étude de reconduction (88 obtenues lors des essais préliminaires et 12 lors des essais complémentaires).

Le nombre d'échantillons naturellement contaminés atteint 26,3 %.

Produits carnés

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 35	PD= 0
Méthode alternative négative (A-)	ND= 1 PPND = 0	NA= 36 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Produits de la mer et végétaux

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 32	PD= 0
Méthode alternative négative (A-)	ND= 0 PPND = 0	NA= 30 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Produits laitiers

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 32	PD= 0
Méthode alternative négative (A-)	ND= 0 PPND = 0	NA= 30 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Ovoproduits

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 33	PD= 1
Méthode alternative négative (A-)	ND= 3 PPND = 0	NA= 36 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Echantillons d'alimentation animale

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 29	PD= 0
Méthode alternative négative (A-)	ND= 2 PPND = 0	NA= 29 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Tous produits

Réponse	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	PA= 161	PD= 1
Méthode alternative négative (A-)	ND= 6 PPND = 0	NA= 161 PPNA = 0

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Calcul de l'exactitude relative, de la sensibilité relative et de la spécificité relative

Catégorie de produit	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%)	N+	Sensibilité relative SE (%)	N-	Spécificité relative SP (%)
Produits carnés	35	36	1	0	72	99	36	97	36	100
Produits de la mer et végétaux	32	30	0	0	62	100	32	100	30	100
Produits laitiers	32	30	0	0	62	100	32	100	30	100
Ovoproduits	33	36	3	1	73	95	36	92	37	97
Alimentation animale	29	29	2	0	60	97	31	94	29	100
Total	161	161	6	1	329	98	167	96	162	99

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive.

AC = (PA+NA)/N x 100%, SE = PA/N+ x 100%, SP = NA/N- x 100%, N+ = PA+ND et N- = NA+PD.

La sensibilité a également été recalculée en tenant compte de l'ensemble des positifs confirmés (ceci inclut le positif supplémentaire de la méthode alternative)

	Méthode alternative :	Méthode de référence :
Sensibilité	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) = 96\%$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) = 99\%$

Calcul des intervalles de confiance associés au nombre d'échantillons soumis à essai

Catégorie de produit	Exactitude relative			Sensibilité relative			Spécificité relative		
	N	AC (%)	LCL (%)	N+	SE (%)	LCL (%)	N-	SP (%)	LCL (%)
Produits carnés	72	99	98	36	97	96	36	100	96
Produits de la mer et végétaux	62	100	98	32	100	98	30	100	98
Produits laitiers	62	100	98	32	100	98	30	100	98
Ovoproduits	73	95	93	36	92	86	37	97	96
Alimentation animale	60	97	96	31	94	88	29	100	98
Total	329	98	96	167	96	93	162	99	98

LCL : limite de confiance inférieure à 95% (unilatéral)

Analyse des résultats discordants

Au cours de cette étude de reconduction, quatre résultats discordants ont été obtenus.

Deux échantillons d'alimentation animale contaminés artificiellement avec une souche de *S. Montevideo* stressée (RD962 farine animale et RD963 échantillon de régime) ont donné un résultat positif par la méthode de référence alors que la méthode alternative a donné un résultat négatif. Les isolements réalisés à partir du tube 3 du module n'ont mis en évidence aucune colonie caractéristique sur les 2 milieux sélectifs utilisés (Hektoen et XLD). Le taux d'inoculation étant très faible (4 CFU/25g), il est probable qu'aucune cellule n'ait été inoculée dans la prise d'essai correspondante.

Ces deux résultats discordants (ND) seraient dus à la prise d'essai, puisque l'étape de pré-enrichissement des deux méthodes est différente.

Lors des essais complémentaires, 2 déviations négatives ont été obtenues. Il s'agit de 2 échantillons de coule d'œuf contaminés par 2 souches différentes de *S. Infantis*. Le test Unique a donné un résultat négatif alors que la méthode de référence a donné un résultat positif. Les isolements réalisés à partir du tube 3 du module confirment la présence de *Salmonella* sur les 2 milieux sélectifs utilisés (Hektoën et XLD).

Il semblerait qu'un effet matrice soit à l'origine de ces deux résultats discordants car les mêmes souches avec les mêmes stress inoculées dans la matrice viande crue ont donné un résultat positif.

Selon la norme NF EN ISO 16140 et pour l'ensemble des données (étude 2003 et étude 2007), le nombre de discordants [$Y=ND(6) + PD(1)$] est de 7. Etant donné que $m=1$ et $M=0$ avec $m>M$, les 2 méthodes ne sont donc pas différentes.

4.2 Niveau de détection relatif de la méthode alternative et la méthode de référence

L'objectif est de déterminer la concentration minimale de *Salmonella* spp. détectable dans un aliment ou matrice par les deux méthodes.

4.2.1 Protocole d'essai

Souche (Origine)	Aliment ou produit	Flore totale
<i>S. Typhimurium</i> (Pièce de porc)	Viande hachée	$2,9.10^3$ CFU/g
<i>S. Enteritidis</i> (Moules)	Saumon fumé	$8,0.10^2$ CFU/g
<i>S. Dublin</i> (Lait)	Lait cru	$8,0.10^3$ CFU/mL
<i>S. Enteritidis</i> (Ovoproduit)	Œufs entiers	$9,9.10^1$ CFU/g
<i>S. Infantis</i> (Farine animale)	Aliments pour chat	$1,8.10^3$ CFU/g

Cinq à six niveaux de contamination ont été testés dont le contrôle négatif.

Six répliquats ont été réalisés pour chaque niveau. Les contaminations ont été réalisées directement dans les bouillons de pré-enrichissement pour chaque méthode, avant incubation.

Des suspensions d'environ 10 cellules par mL (suspension initiale) ont été préparées. A partir de la suspension initiale, des volumes de 0,3 mL et 0,1 mL sont prélevés pour contaminer 25 g ou mL de matrice pour les deux premiers niveaux. En parallèle, la suspension initiale est diluée au 1/2 et au 1/4. Un volume de 0,1 mL de ces 2 suspensions est prélevé pour contaminer 25 g ou mL de matrice. Pour l'ensemble des niveaux de contamination, l'homogénéité des inoculés est vérifiée par 30 dénombrements en gélose TSA et le calcul de l'intervalle de confiance selon la loi de Poisson est calculé.

4.2.2 Résultats

Les limites de détection pour chacune des méthodes et pour chaque catégorie de produits sont résumées dans le tableau suivant :

Souche (Origine)	Matrice	Niveau de détection relatif selon le test Spearman-Kr�ber	
		Méthode de référence (*)	Méthode alternative
<i>S. Typhimurium</i> (Pièce de porc)	Viande hachée	0,4 ^a [0,2 ; 0,8]	0,7 ^a [0,4 ; 1,3]
<i>S. Enteritidis</i> (Moules)	Saumon fumée	0,7 ^a [0,5 ; 1,0]	1,1 ^a [0,7 ; 1,8]
<i>S. Dublin</i> (Lait)	Lait cru	2,1 ^a [1,0 ; 4,3]	1,2 ^a [0,6 ; 2,4]
<i>S. Enteritidis</i> (Ovoproduit)	Œufs entiers	1,0 ^a [0,6 ; 1,5]	1,3 ^a [0,7 ; 2,4]
<i>S. Infantis</i> (Farine animale)	Aliments pour chat	0,9 ^a [0,5 ; 1,4]	1,1 ^a [0,6 ; 2,1]

a : cellules dans 25 g (mL)

4.2.3 Conclusion

La limite de détection relative de la méthode alternative varie de à 0,4 à 2,4 CFU / 25 g (mL) de matrice et celui de la méthode de référence varie de 0,2 à 4,3 CFU / 25 g (mL) de matrice.

4.3 Sélectivité

L'objectif de cette étape est de s'assurer que toutes les souches de *Salmonella* spp sont détectées par le test Unique Tecra *Salmonella* (inclusivité) et qu'il n'existe pas de réaction croisée avec les souches non *Salmonella* (exclusivité).

4.3.1 Protocole d'essai

Les 50 souches cibles testées ont subi 2 repiquages successifs avant leur utilisation. Le dernier repiquage a été réalisé dans le bouillon eau peptonée tamponnée modifiée additionnée de supplément TECRA et d'Imbentin. Le niveau d'inoculation était de 100 ± 50 CFU par 100 mL et le protocole complet (protocole spécifique) de la méthode a été ensuite appliqué.

Pour quelques souches donnant un résultat incohérent, des essais supplémentaires ont été effectués en augmentant le niveau d'inoculation, en appliquant le protocole général ou en réalisant le test directement à partir d'une suspension bactérienne à forte concentration.

Pour les souches non cibles, les souches testées ont subi 2 repiquages successifs avant leur utilisation. Le dernier repiquage a été réalisé dans le bouillon non sélectif TSB. Le niveau d'inoculation est d'environ 10⁶ CFU/mL.

4.3.2 Résultats

51 souches de *Salmonella* appartenant à 29 serovars différents ont été testées.

Une souche n'a pas été détectée par le test quel que soit le protocole appliqué. Il s'agit d'une souche de *S. Paratyphi C* (CIP 55.108).

Pour 5 souches de collection. *S. Gallinarum* (CIP A255), *S. Infantis* (CIP 103549), *S. Paratyphi A* (CIP 55.39) et *S. Senftenberg* (CIP 105343) et *S. Typhi* (CIP 54136), les essais réalisés en suivant le protocole spécifique ont donné un résultat négatif mais positif lorsque le protocole général est appliqué.

Aucune réaction croisée n'a été mise en évidence avec les souches non cibles.

4.4 Essais complémentaires

4.4.1 Exactitude

A la demande du Bureau Technique, l'étude d'exactitude a été complétée en testant des souches de *S. Infantis* dans les matrices ovoproduits et produits carnés crus ainsi que des souches de *S. Gallinarum* sur des échantillons de volaille crue.

Résultat des essais complémentaires:

Au total, 12 échantillons ont été analysés par les 2 méthodes.

Les 4 échantillons de viandes crues artificiellement contaminés par 4 souches différentes de *S. Infantis* ont donné un résultat positif par les 2 méthodes.

Quatre échantillons ont été analysés dans la catégorie ovoproduits. Deux résultats discordants ont été obtenus. Il s'agit de 2 échantillons de coule d'œuf contaminés par 2 souches différentes de *S. Infantis*. Le test Unique a donné un résultat négatif alors que la méthode de référence a donné un résultat positif. Les isollements réalisés à partir du tube 3 du module confirment la présence de *Salmonella* sur les 2 milieux sélectifs utilisés (Hektoën et XLD).

Il semblerait qu'un effet matrice soit à l'origine de ces deux résultats discordants car les mêmes souches avec les mêmes stress inoculées dans la matrice viande crue ont donné un résultat positif.

Les essais réalisés dans la matrice poudre d'œuf sont conformes à ceux attendus.

Les 4 échantillons de volailles crues artificiellement contaminés avec 4 souches différentes de *S. Gallinarum* ont donné un résultat négatif par les 2 méthodes.

4.4.2 Sélectivité

A la demande du Bureau Technique, l'étude d'inclusivité a été complétée en testant les sérotypes non détectés et en ajoutant quelques souches de *S. Arizonae*. Les souches ont été testées à des taux plus faibles (de 10 à 100 fois le niveau de détection dans 225 mL) en appliquant les deux protocoles de la méthode alternative (général et spécifique). Le protocole spécifique a été testé en matrice lait.

Les 2 souches de *S. Arizonae* testées ont été détectées par le test Unique quel que soit le protocole appliqué.

Parmi les souches détectées seulement avec le protocole général, l'ajout de la matrice lait a permis d'obtenir avec le protocole spécifique un résultat positif pour les 2 souches de *S. Paratyphi B* (Sal 19.1 et CIP 54.100) et pour la souche de *S. Senftenberg* (CIP 105343).

Quatre souches donnent un résultat négatif au test lorsque le protocole spécifique est appliqué. Il s'agit des souches de *S. Gallinarum* (CIP A255), *S. Infantis* (CIP 103549), *S. Paratyphi A* (CIP 55 39), *S. Typhi* (CIP 54 136). Cependant ces mêmes souches sont détectées avec le protocole général à des taux plus faibles.

Une souche n'a pas été détectée par le test quel que soit le protocole appliqué. Il s'agit d'une souche de *S. Paratyphi C* (CIP 55.108).

A la demande du Bureau Technique et de manière à compléter l'étude d'inclusivité avec les sérovars *Infantis* et *Gallinarum*, 8 souches sauvages fournies par l'AFSSA ont été testées.

Les 4 souches de *S. Infantis* donnent un résultat positif au test avec le protocole général de la méthode alternative. Cependant un résultat négatif est obtenu avec le protocole spécifique. Pourtant ces 4 souches donnent toutes un résultat positif avec le protocole spécifique lorsqu'elles sont testées stressées en matrice viande crue avec un taux de contamination de 17 à 29 CFU dans 25 g de produit.

Les 4 souches de *S. Gallinarum* ne sont pas détectées lorsque le protocole complet de la méthode (général ou spécifique) est appliqué. Néanmoins, un résultat positif est obtenu lorsque le test est réalisé avec suspension bactérienne de l'ordre de 10^7 CFU/mL. Il semblerait que ces souches n'atteignent pas une concentration suffisante pour dépasser le seuil de détection de la méthode.

En effet, les caractéristiques culturelles de ces souches sont différentes comparées aux autres sérovars. Testées stressées en matrice volaille crue, ces 4 souches donnent un résultat négatif, même avec la méthode de référence.

5 – Etude collaborative

L'étude collaborative a été réalisée conformément au référentiel NF EN ISO 16140.

L'objectif principal de cette étude est de déterminer la variabilité des résultats obtenus dans différents laboratoires analysant des échantillons identiques et de comparer ces résultats dans le cadre de l'étude comparative des méthodes.

5.1 Mise en oeuvre de l'étude collaborative

5.1.1 Laboratoires collaborateurs

L'étude collaborative a été réalisée par le laboratoire expert et treize laboratoires collaborateurs.

5.1.2 Vérification de l'absence de *Salmonella* spp dans la matrice utilisée

L'absence de *Salmonella* spp a été vérifiée sur le lot de lait pasteurisé utilisé avant la contamination artificielle.

5.1.3 Stabilité de la souche dans la matrice lait pasteurisé

La stabilité de la souche, dans la matrice lait pasteurisé, a été évaluée sur 3 jours à $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

La souche utilisée est *Salmonella* Enteritidis (souche sauvage isolée à partir d'ovoproduit). Deux types d'analyse ont été réalisés.

- (1) - Inoculation de 10 cellules dans 25 mL de lait pasteurisé. Les échantillons ont été analysés à J0, J+1, J+2 et J+3 par la méthode de référence et par la méthode alternative.
- (2) - Inoculation d'environ $2,5 \cdot 10^3$ cellules dans 25 mL de lait pasteurisé. Les échantillons ont été analysés à J0, J+1, J+2, J+3 par dénombrement sur milieu XLD.

Les résultats sont synthétisés dans le tableau 1.

Jour	Méthode alternative (1)	Méthode de référence (1)(*)	Dénombrement sur XLD (2)
J0	Présence dans 25 mL	Présence dans 25 mL	$1,1 \cdot 10^2$ CFU/mL
J+1	Présence dans 25 mL	Présence dans 25 mL	$1,2 \cdot 10^2$ CFU/mL
J+2	Présence dans 25 mL	Présence dans 25 mL	$1,3 \cdot 10^2$ CFU/mL
J+3	Présence dans 25 mL	Présence dans 25 mL	$1,1 \cdot 10^2$ CFU/mL

Tableau 1 : Résultats de l'étude de stabilité effectuée sur la souche *S. Enteritidis* dans la matrice lait pasteurisé.

L'ensemble des résultats montre que la souche de *Salmonella* Enteritidis utilisée est stable pendant 3 jours à $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ dans la matrice lait pasteurisé.

5.1.4 Préparation et inoculation des échantillons

La matrice est inoculée avec la souche de *S. Enteritidis* selon le protocole des petits nombres.

Trois taux ont été testés :
 0 cellule dans 25 mL (L0),
 3 cellules dans 25 mL (L1),
 30 cellules dans 25 mL (L2)

La matrice a été répartie à raison de 25 mL dans des flacons stériles à capuchon étanche. Chaque flacon a été inoculé individuellement et homogénéisé. Huit échantillons par taux, par méthode et par laboratoire ont été préparés. Chaque laboratoire a reçu 48 échantillons à tester (24 par la méthode alternative et 24 par la méthode de référence) et un échantillon pour quantifier la flore endogène de la matrice.

Matrice alimentaire	Flore totale (CFU/ mL)	Taux cibles (cellules/25 mL)	Taux réels (cellules/25 mL)	Intervalle de confiance
Lait pasteurisé	<1	0	-	-
		3	3,4 ^a	[0,7] ^b
		30	33,7 ^a	[22,45] ^c

a : moyenne de 30 dénombrements, b : selon la loi de Poisson, c : selon la loi normale

Tableau 2 : Résultats de dénombrements des inocula de *Salmonella* Enteritidis et de la flore totale dans le lait pasteurisé

5.1.5 Etiquetage des échantillons

L'étiquetage des flacons a été réalisé de la façon suivante :

- 1- un code permettant d'identifier le laboratoire : A à N,
- 2- un code permettant d'identifier chaque échantillon, connu uniquement du laboratoire expert,
- 3- un code permettant d'identifier la méthode pour la mise en analyse.

Les échantillons et les témoins température (échantillon d'eau contenant un thermobouton) ont été stockés à 4°C avant expédition.

Taux (cellules / 25 mL)	Codes échantillon
0	6, 7, 13, 14, 16, 19, 22, 24
3	1, 5, 8, 9, 12, 20, 21, 23
30	2, 3, 4, 10, 11, 15, 17, 18

Tableau 3 : Codes échantillon attribués à chaque niveau de contamination

5.1.6 Expédition des échantillons

Les échantillons ont été expédiés dans un kit froid le 4 juin 2007. Le transport a été confié à CHRONOPOST PREMIUM pour les envois en France et Chronopost International pour l'envoi en Suisse.

5.1.7 Réception et analyse des échantillons par les laboratoires collaborateurs

Les colis sont arrivés en moins de 24 heures chez les laboratoires collaborateurs à l'exception du colis à destination de la Suisse.

La température du pot témoin a été prise dès réception du colis et le thermobouton expédié au laboratoire expert pour la lecture des données. Les échantillons ont été analysés dans la journée (5 juin 2007). Le laboratoire expert a analysé, en parallèle, une série d'échantillons dans les mêmes conditions avec la méthode alternative et la méthode de référence.

5.2 Résultats

5.2.1 Température et état des échantillons à réception

Laboratoire	Température (°C)	Etat des échantillons
A	6,1	Bon
B	8,0	Bon
C	4,8	Bon
D	5,5	Bon
E	6,4	Bon
F	7,9	Bon
G	6,2	Bon
H	7,3	Bon
I	6,5	Bon
J	/	/
K	10,2	Bon
L	6,2	Bon
M	7,0	Bon
N	7,5	Bon

Tableau 4 : Température et état des échantillons à réception chez les laboratoires participants

L'analyse des profils thermiques des différents thermoboutons montre, pour l'ensemble des laboratoires, une température moyenne de transport des échantillons comprise entre 5,6°C et 7,5°C.

Le laboratoire J n'a pas reçu le colis dans les délais.

Le laboratoire K a constaté une température à réception de 10,2°C. Cependant les données du thermobouton indiquent une température moyenne de transport de 6,2°C. C'est pourquoi les données obtenues par ce laboratoire ont été intégrées dans l'analyse globale des résultats.

Laboratoire	Température (°C)	
	Moyenne	Ecart-type
A	6,6	0,6
B	7,5	1,5
C	6,4	2,1
D	5,9	1,0
E	6,7	1,0
F	5,7	1,6
G	6,3	1,2
H	6,2	0,5
I	7,0	1,5
J	/	/
K	6,2	0,6
L	5,6	1,0
M	7,2	1,3
N	6,8	1,3

Tableau 5 : Données des thermoboutons au cours de l'expédition des échantillons

5.2.2 Dénombrements de la flore totale

Pour l'ensemble des laboratoires, les dénombrements de la flore totale aérobie 30°C varient entre <1 et 50 CFU/mL.

5.2.3 Résultats du laboratoire expert

Niveau de contamination	Méthode alternative	Méthode de référence (*)
L0	0/8	0/8
L1	8/8	7/8
L2	8/8	8/8

Tableau 6 : Résultats positifs obtenus par le laboratoire expert avec les deux méthodes

Les résultats obtenus par le laboratoire expert sont conformes à ceux attendus. Il est à souligner qu'un échantillon faiblement contaminé (niveau L1) a donné un résultat négatif par la méthode de référence. Il est fort probable qu'aucune cellule n'ait été inoculée puisque l'intervalle de confiance associé au niveau de contamination L1 est compris entre 0 et 7 cellules.

5.2.4 Résultats des laboratoires collaborateurs

L'ensemble des résultats est résumé dans le tableau 7.

Les données de 4 laboratoires (E, F, J et L) ont été exclues de l'analyse globale des résultats.

- le laboratoire E a obtenu 7 résultats positifs confirmés par la méthode de référence à partir d'échantillons non contaminés.
- le laboratoire F a obtenu 8 résultats négatifs par la méthode de référence à partir d'échantillons contaminés.
- le laboratoire J n'a pas reçu les échantillons dans les délais et n'a donc pas réalisé les analyses.
- le laboratoire L a obtenu des résultats incohérents avec la méthode de référence. Huit échantillons contaminés ont donné un résultat négatif. Parmi les 8 échantillons ayant donné un résultat positif, les isolements réalisés à partir des 2 bouillons sélectifs MKTTn et RVS n'ont pas mis en évidence la présence de *Salmonella* sur l'ensemble des géloses sélectives. De plus, le manque de disponibilité et de communication avec ce laboratoire ne nous a pas permis d'expliquer les résultats.

Laboratoire	Niveau de contamination		
	L0	L1	L2
A	0/8	8/8	8/8
B	0/8	7/8	8/8
C	0/8	8/8	8/8
D	0/8	7/8	8/8
E	-	-	-
F	-	-	-
G	0/8	8/8	8/8
H	1/8	8/8	8/8
I	0/8	8/8	8/8
J	-	-	-
K	0/8	8/8	8/8
L	-	-	-
M	0/8	8/8	8/8
N	0/8	8/8	8/8
Total	1/80 ^a	78/80 ^b	80/80 ^c

a FP : faux positifs obtenus avec la méthode alternative, b TP_{1a} : vrais positifs obtenus au niveau L1 avec la méthode alternative, c TP_{2a} : vrais positifs obtenus au niveau L2 avec la méthode alternative

Tableau 7 : Résultats positifs obtenus par l'ensemble des laboratoires collaborateurs pour la méthode alternative

Laboratoire	Niveau de contamination		
	L0	L1	L2
A	0/8	8/8	8/8
B	0/8	8/8	8/8
C	2/8	8/8	8/8
D	0/8	8/8	8/8
E	-	-	-
F	-	-	-
G	0/8	8/8	8/8
H	0/8	4/8	8/8
I	0/8	8/8	8/8
J	-	-	-
K	0/8	8/8	8/8
L	-	-	-
M	0/8	8/8	8/8
N	0/8	8/8	8/8
Total	2/80 ^a	76/80 ^b	80/80 ^c

a FP : faux positifs obtenus avec la méthode de référence, b TP_{1r} : vrais positifs obtenus au niveau L1 avec la méthode de référence, c TP_{2r} : vrais positifs obtenus au niveau L2 avec la méthode de référence

Tableau 8 : Résultats obtenus par l'ensemble des laboratoires collaborateurs pour la méthode de référence

1-Calcul des pourcentages de spécificité (SP) et de sensibilité (SE) pour la méthode alternative et la méthode de référence

	Méthode alternative	Méthode de référence
SP (niveau L0)	99 %	98 %
SE (niveau L1)	98 %	95 %
SE (niveau L2)	100 %	100 %
SE (niveau L1+L2)	99%	98 %

$$SP = [1-(FP/N-)] \times 100\%$$

N- : nombre total des essais L0

FP : nombre de faux positifs

$$SE = (TP/N+) \times 100\%$$

N+ : nombre total des essais L1 ou L2

TP : nombre de vrais positifs

2-Calcul de l'exactitude relative pour les différents niveaux de contamination

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 0	PD = 1	1
-	ND = 2 PPND = 0	NA = 77 PPNA = 0	79
Total	2	78	80

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive,

PP : présumé positif avant confirmation.

Tableau 9 : Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence pour le niveau de contamination L0

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 74	PD = 4	78
-	ND = 2 PPND = 0	NA = 0 PPNA = 0	2
Total	76	4	80

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Tableau 10 : Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence pour le niveau de contamination L1

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 80	PD = 0	80
-	ND = 0 PPND = 0	NA = 0 PPNA = 0	0
Total	80	0	80

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Tableau 11 : Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence pour le niveau de contamination L2

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 154	PD = 5	159
-	ND = 4 PPND = 0	NA = 77 PPNA = 0	81
Total	158	82	240

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

Tableau 12 : Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence pour la totalité des résultats

3-Calcul de l'exactitude relative, de la sensibilité relative et de la spécificité relative

Catégorie de produit	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%)	N+	Sensibilité relative SE (%)	N-	Spécificité relative SP (%)
Niveau L0	0	77	2	1	80	96	2	-	78	99
Niveau L1	74	0	2	4	80	93	76	97	4	-
Niveau L2	80	0	0	0	80	100	80	100	0	-
Total	154	77	4	5	240	96	158	97	82	94

PA : accord positif, NA : accord négatif, ND : déviation négative, PD : déviation positive, PP : présumé positif avant confirmation.

AC = $(PA+NA)/N \times 100\%$, SE = $PA/N+ \times 100\%$, SP = $NA/N- \times 100\%$, N+ = PA+ND et N- = NA+PD.

4-Calcul des intervalles de confiance

	Exactitude relative			Sensibilité relative			Spécificité relative		
	N	AC(%)	LCL(%)	N+	SE(%)	LCL(%)	N-	SP(%)	LCL(%)
Niveau L0	80	96	93	2	-	-	78	99	98
Niveau L1	80	93	89	76	97	93	4	-	-
Niveau L2	80	100	98	80	100	98	0	-	-
Total	240	96	93	158	97	93	82	94	89

LCL : limite de confiance inférieure à 95% (unilatéral)

5- Analyse des résultats discordants

Niveau L0

Le laboratoire C a obtenu deux résultats positifs par la méthode de référence sur des échantillons initialement non contaminés. Seuls les isolements réalisés à partir du bouillon sélectif MKTTn ont mis en évidence des colonies caractéristiques sur les géloses sélectives. Il est possible qu'une contamination se soit produite au niveau du repiquage des bouillons de pré-enrichissement puisque les tests de confirmation montrent qu'il s'agirait de la même souche que celle utilisée pour les contaminations artificielles.

Le laboratoire H a obtenu un résultat positif par la méthode alternative sur un échantillon initialement non contaminé. L'analyse a été réalisée à l'aide de l'automate et le signal obtenu est faible, en relation avec le faible nombre de colonies mises en évidence sur les milieux sélectifs après l'isolement réalisé à partir du tube 3 du module. Les tests de confirmation indiquent que la souche isolée à partir de cet échantillon appartient au même sérotype que la souche utilisée pour le dopage des échantillons, ce qui valide l'hypothèse d'intercontamination. De plus, le test Unique *Salmonella* a de nouveau été réalisé à partir du bouillon de pré-enrichissement et le test a donné un résultat négatif.

Niveau L1

Six échantillons ont donné un résultat négatif. Deux ont été obtenus par la méthode alternative (1 échantillon dans laboratoire B et 1 échantillon dans le laboratoire D) alors que la méthode de référence a donné 4 résultats négatifs (laboratoire H). Il est fort probable qu'aucune cellule n'ait été inoculée dans les flacons puisque l'intervalle de confiance associé au niveau de contamination L1 est compris entre 0 et 7 cellules. Les 2 méthodes n'ayant pas d'étape commune, chaque code échantillon correspond à flacons différents. Cependant, ces résultats sont en défaveur de la méthode de référence, amenant à 4 le nombre d'échantillons considérés comme déviation positive.

Selon l'annexe F de la norme NF EN ISO 16140, le nombre de discordants [$Y=ND(4) + PD(5)$] est de 9. Etant donné que $m=4$ et $M=1$ avec $m>M$, les 2 méthodes ne sont statistiquement pas différentes au risque α de 5 %.

6- Interprétation

6-1 Degré d'accord

C'est le pourcentage de chance de trouver le même résultat pour deux prises d'essai identiques (deux échantillons identiques) analysés dans le même laboratoire dans les conditions de répétabilité.

Le degré d'accord est la moyenne des probabilités que deux répliquats donnent le même résultat pour chaque laboratoire.

Niveau	Méthode alternative	Méthode de référence
L0	98%	96%
L1	96%	95%
L2	100%	100%

Tableau 13 : Degré d'accord par niveau et par méthode

6-2 Concordance

C'est le pourcentage de chance de trouver le même résultat pour deux échantillons identiques analysés dans deux laboratoires différents (conditions de reproductibilité). La concordance est le pourcentage de toutes les paires donnant les mêmes résultats sur toutes les paires possibles de résultats.

Niveau	Méthode alternative	Méthode de référence
L0	97 %	95 %
L1	95 %	90 %
L2	100 %	100 %

Tableau 14 : Concordance par niveau et par méthode

6-3 Odds ratio

Le calcul de *odds ratio* (COR) est défini comme suit

$COR = \text{degré d'accord} \times (100 - \text{concordance}) / \text{concordance} \times (100 - \text{degré d'accord})$

Niveau de contamination	Méthode alternative			Méthode de référence		
	Degré d'accord	Concordance	COR	Degré d'accord	Concordance	COR
L0	98%	97 %	1.52	96%	95 %	1.26
L1	96%	95 %	1.26	95%	90 %	2.11
L2	100%	100 %	1	100%	100 %	1

Tableau 15 : Calcul de *odds ratio* pour l'ensemble des niveaux de contamination pour les 2 méthodes

Lorsque $COR=1$, le degré d'accord et la concordance sont égaux. Deux échantillons identiques ont autant de chance de donner le même résultat s'ils sont analysés par le même laboratoire que s'ils sont analysés par des laboratoires différents.

Lorsque $COR>1$, la concordance est plus petite que le degré d'accord. Deux échantillons identiques ont plus de chance de donner le même résultat s'ils sont analysés par le même laboratoire que s'ils sont analysés par des laboratoires différents

6-4 Comparaison des valeurs d'exactitude relative (AC), de spécificité (SP) et de sensibilité (SE)

Le tableau 16 synthétise les valeurs obtenues pour ces paramètres pour l'étude préliminaire et pour l'étude collaborative.

	Etude préliminaire	Etude collaborative
Exactitude relative (AC)	98 %	96 %
Spécificité (SP)	99 %	94 %
Sensibilité (SE)	96 %	97 %

Tableau 16: Comparaison des valeurs de AC, SP et SE entre les études préliminaire et collaborative

6 - Conclusion générale

Les performances du test 3M Tecra Unique *Salmonella* sont comparables à celles de la méthode de référence NF EN ISO 6579 (2002). Cette étude a porté sur 329 échantillons de produits d'alimentation humaine et animale.

L'exactitude obtenue est de 98 %, la sensibilité relative de 96 % et la spécificité relative est de 99%. Sept résultats discordants ont été obtenus : 1 résultat positif supplémentaire et 6 résultats faux négatifs.

Le niveau de détection relatif de la méthode alternative et de la méthode de référence a été évalué pour l'ensemble des catégories. Il varie de 0,4 à 2,4 CFU / 25 g (mL) de matrice et de 0,2 à 4,3 CFU / 25 g (mL) de matrice respectivement pour la méthode alternative et pour la méthode de référence.

Concernant la sélectivité du test 3M Tecra Unique *Salmonella*, aucune réaction croisée n'a été mise en évidence. Quelques souches cibles ne sont pas détectées lorsque que le protocole complet de la méthode est appliqué, cependant un résultat positif est obtenu avec le protocole général (sauf pour 4 souches de *S. Gallinarum* et 1 souche de *S. Paratyphi C*). Il semblerait que les résultats négatifs obtenus avec le protocole spécifique soient liés aux caractéristiques culturelles de ces souches.

Les valeurs de l'exactitude relative, de la sensibilité relative et de la spécificité relative obtenues suite à l'étude collaborative sont comparables à celles obtenues lors de l'étude préliminaire. La comparaison des valeurs du degré d'accord et de la concordance et des *odds ratio* est en faveur de la méthode alternative.