

Laboratoire de Touraine



Société ADNucleis



Certification sous marque NF VALIDATION

**Rapport de synthèse des études préliminaire et interlaboratoire
pour la validation de la méthode « HQS Salmonella »
en vue de la détection de *Salmonella spp*
dans les produits d'alimentation humaine**

**Etude conduite selon la norme NF EN ISO 16 140
(Méthode qualitative)**

Etudes réalisées par :

Laboratoire de Touraine

BP 67357

37073 Tours cedex 2

Responsable de l'étude : J. DELAVAL

02/47/29/44/47

Pour :

Société ADNucleis

3, route des pierres blanches

69290 GREZIEU LA VARENNE

Représentant du fabricant : P. FIGWER

04/78/57/16/40

(N° attestation NF VALIDATION : ADN 33/03 - 04/10)

version 0 du 21 avril 2011

SOMMAIRE

<u>1– INTRODUCTION</u>	Page 4
1.1 Référentiel de validation	Page 4
1.2 Protocole et principe de la méthode alternative HQS Salmonella	Page 4
1.3 Domaines d'application demandés	Page 4
1.4 Méthode de référence	Page 5
<u>2– ETUDE COMPARATIVE</u>	Page 5
2.1 Exactitude relative, spécificité relative, sensibilité relative	Page 5
2.1.1 Nombre et nature des échantillons soumis aux essais après 12 et 24 h	Page 5
2.1.2 Contamination artificielle des échantillons.....	Page 6
2.1.3 Résultats des essais	Page 7
2.1.4 Calcul de l'exactitude, de la sensibilité et de la spécificité relatives.....	Page 12
2.1.4.1 Après 12 heures d'incubation.....	Page 12
2.1.4.2 Après 24 heures d'incubation.....	Page 12
2.1.5 Analyse des discordances	Page 13
2.1.5.1 Après 12 heures d'incubation.....	Page 13
2.1.5.2 Après 24 heures d'incubation.....	Page 13
2.2 Niveau de détection relative	Page 13
2.2.1 Matrices utilisées	Page 13
2.2.2 Protocole de contamination.....	Page 14
2.2.3 Résultats	Page 14
2.3 Inclusivité – Exclusivité	Page 15
2.3.1 Inclusivité.....	Page 15
2.3.1.1 Protocole d'essai.....	Page 15
2.3.1.2 Résultats	Page 15
2.3.2 Exclusivité.....	Page 18
2.3.2.1 Protocole d'essai	Page 18
2.3.2.2. Résultats.....	Page 18
2.4 Praticabilité en 11 critères	Page 19
2.5 Conclusions de l'étude préliminaire	Page 23
<u>3– ETUDE INTERLABORATOIRE</u>	Page 23
3.1 Organisation de l'étude interlaboratoire	Page 24
3.1.1 Nombre de laboratoires participants, matrice, souche et nombre d'échantillons	Page 24
3.1.2 Modalité de préparation et de contamination des échantillons	Page 24
3.1.3 Modalités d'expédition	Page 25
3.1.4 Eléments nécessaires à la réalisation des essais par les laboratoires collaborateurs	Page 25
3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux	Page 26

3.3 Résultats	Page 26
3.3.1 Flore mésophile totale	Page 26
3.3.2 Résultats du laboratoire expert.....	Page 26
3.3.3 Résultats des laboratoires collaborateurs	Page 26
3.3.3.1 Niveaux L0 et L2.....	Page 26
3.3.3.2 Niveau L1	Page 27
3.4 Calculs	Page 27
3.4.1 Calcul des pourcentages de spécificité et de sensibilité pour les 2 méthodes	Page 27
3.4.2 Calcul de l'exactitude relative	Page 28
3.4.3 Etude des résultats discordants	Page 29
3.5 Interprétation	Page 29
3.5.1 Comparaison des exactitudes relatives, spécificité et sensibilité.....	Page 29
3.5.2 Degré d'accord	Page 30
3.5.3 Concordance	Page 30
3.5.4 Odds ratio.....	Page 30
3.5.5 Complément de praticabilité en 2 critères	Page 31
3.5.6 Conclusions de l'étude interlaboratoire.....	Page 31
 ANNEXES	 Page 32
- Annexe 1 : Protocole de la méthode de référence.	Page 32
- Annexe 2 : Résultats de l'étude de justesse.	Page 33
- Annexe 3 : calculs AC, SE et SP avec limite de confiance inférieure.	Page 44
- Annexe 4 : Résultats détaillés de la détection relative.	Page 46
- Annexe 5 : Liste des laboratoires collaborateurs.	Page 51
- Annexe 6 : Instruction pour les laboratoires collaborateurs.	Page 52
- Annexe 7 : Résultats du laboratoire expert dans l'étude collaborative.	Page 55
- Annexe 8 : Résultats des laboratoires collaborateurs.	Page 58
- Annexe 9 : Calcul de l'exactitude relative pour les niveaux L0, L1 et L2.	Page 66
- Annexe 10 : résultats positifs par niveau et par méthode.	Page 67
- Annexe 11 : Détails pour la détermination des degrés d'accord pour les deux méthodes.....	Page 68
- Annexe 12 .Niveau de concordance pour le niveau L1 pour les deux méthodes....	Page 69

1 Introduction

1.1 Référentiel de validation.

Le référentiel utilisé pour mener les deux étapes de cette étude de validation est la norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003).

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative HQS Salmonella.

La méthode HQS Salmonella est une méthode de biologie moléculaire de type PCR (Polymerase Chain Reaction) qui utilise le marqueur Sybrgreen TM pour sa révélation.

Peuvent être distinguées successivement les étapes suivantes :

Une étape d'enrichissement en bouillon EPT préchauffé,

Une étape d'extraction fondée sur la lyse thermique et enzymatique du bouillon d'enrichissement après 12 à 24 heures d'incubation à 37°C,

Une étape de purification d'ADN sur colonne avec membrane filtrante de silice

Une étape d'amplification de qPCR en temps réel fondée sur l'utilisation du marqueur fluorescent SYBR Green qui émet une fluorescence lorsqu'il est fixé à l'ADN double brin,

Une dernière étape de dissociation thermique qui permet de déterminer le T_m ou température de fusion.

La spécificité de cette méthode repose sur l'utilisation d'amorces spécifiques permettant de visualiser une courbe d'amplification et une courbe de dissociation dans un intervalle thermique déterminé.

Protocole de confirmation.

Selon les recommandations du fabricant, les résultats positifs obtenus par la méthode alternative ont été confirmés par les tests biochimiques et sérologiques cités dans la norme NF EN ISO 6579 (décembre 2002)

Instrument d'amplification utilisé lors de cette étude.

Les résultats de cette étude ont été obtenus sur l'appareil d'amplification Realplex de la société Eppendorf.

1.3 Domaines d'application demandés.

Deux domaines d'application doivent être distingués au terme de la validation :

Après 12 h d'incubation la méthode a été validée pour les produits carnés, les produits laitiers hors laits crus, les produits de la pêche, les produits végétaux et les produits divers

Après 24 h d'incubation, la méthode a été validée sur les produits carnés, les produits de la pêche, les produits végétaux, les produits divers et les produits laitiers.

Les laits crus n'ont pas été validés après 12 heures d'incubation.

1.4 Méthode de référence

Les performances de la méthode alternative HQS Salmonella ont été comparées à celles de la méthode de référence NF EN ISO 6579 (décembre 2002) : Méthode horizontale pour la recherche de Salmonella.

Le protocole de la méthode de référence est schématisé en annexe n°1.

2 Etude comparative.

2.1 Exactitude relative, spécificité relative, sensibilité relative.

2.1.1 Nombre et nature des échantillons soumis aux essais après 12 et 24 heures d'incubation.

Catégories	Types	Positifs *	Négatifs	Total
Carnés	Crus	18	10	28
	Cuits	13	10	23
	Congelés	12	10	22
	Total	43	30	73
Laitiers	Bruts	10	10	20
	Fermentés	11	10	21
	Déshydratés	10	10	20
	Total	31	30	61
Produits de la Mer	Bruts	10	10	20
	Fumés	10	10	20
	Déshydratés	10	10	20
	Total	30	30	60
Végétaux	Bruts	11	10	21
	Déshydratés	10	10	20
	Jus	10	10	20
	Total	31	30	61
Divers	Mayonnaise	11	10	21
	Ovoproduits	12	10	22
	Chocolat	10	10	20
	Total	33	30	63
**Total après 12h d'incubation		158	140	298
**Total après 24 h d'incubation		168	150	318

N.□.□.□ Résultats positifs par la méthode de référence.

**Les totaux après 12 heures d'incubation diffèrent des totaux après 24 heures d'incubation car les laits crus après douze heures d'incubation ont été exclus de la validation.

2.1.2 Contamination artificielle des échantillons

Le nombre d'échantillons naturellement contaminés par *Salmonella* étant insuffisant pour satisfaire aux exigences du référentiel, le laboratoire expert a du utiliser des aliments artificiellement contaminés.

Deux types de stress ont été appliqués aux 25 souches enrichies en bouillon nutritif.
(congélation à -20°C durant 24 heures, ou chauffage 30 minutes à 55°C)

Après le stress, les bouillons ont été ramenés à 1° Mac Farland, puis dilués selon une raison décimale. Un volume de 0.1ml de chaque dilution homogénéisée a été ensemencé sur gélose ASAP et sur gélose nutritive. L'efficacité du stress a été appréciée par la différence des log des dénombrements dont la valeur est supérieure ou égale à 0.5. La dilution idoine a ensuite été choisie afin de permettre une inoculation des échantillons à des valeurs inférieures à 30 UFC/25g et souvent inférieures à 10 UFC/25g.

Produit et code échantillon	Type de stress	Evaluation « stress » (ΔLog)**	Niveau de contamination /25 grammes	Souche utilisée	Origine
Cf. tableau des résultats détaillés	Congélation	0.5	3	S.rissen	Aliment volaille
"annexe 2"	Congélation	0.5	8	S.III b43 luz 53	Elevage dinde
"	Congélation	0.6	7	S. schwarzengrund	Elevage poule
"	Congélation	0.5	8	S.tennessee	Tourteau soja
"	Congélation	0.5	3	S.grumpensis	Protéine animale
"	Congélation	0.5	9	S.cerro	Farine de viande
"	Congélation	0.6	4	S.havana	Lait cru de brebis
"	Congélation	0.5	7	S.brandenburg	Lait
"	Congélation	0.6	6	S.blockley	Blanc de poulet
"	Congélation	0.5	6	S.montevideo	Cuisse de canard
"	Congélation	0.5	7	S.lexington	Elevage volaille
"	Congélation	0.5	5	S.weltevreden	Aliment poussin
"	Chaleur	0.6	9	S. saintpaul	Canard
"	Chaleur	0.5	5	S.virshow	Blanc de poulet
"	Chaleur	0.6	8	S.seftenberg	Elevage poulet
"	Chaleur	0.5	6	S.kedougou	Figatelli
"	Congélation	0.6	15	S. typhimurium	Langue de porc
"	Congélation	0.6	15	S.enteritidis	Fromage
"	Chaleur	1.5	7	S.hadar	Paupiettes de volaille
"	Chaleur	0.5	5	S.eboko	Rognons
"	Chaleur	0.5	20	S.london	Figatelli
"	Chaleur	0.8	7	S.dublin	Lait cru de vache
"	Chaleur	0.5	9	S.heidelberg	Elevage poule
"	Chaleur	0.5	3	S.regent	Abat dinde
"	Chaleur	0.5	30	S.manhattan	Saucisse sèche

** $\log N$ (milieu non sélectif) – $\log N$ (milieu sélectif).

Sur un total de 168 échantillons positifs après 24 heures d'incubation, 39 sont issus de produits naturellement contaminés soit 23.2%.

129 sont issus de produit artificiellement contaminés soit 76.8%.

2.1.3 Résultats des essais.

L'ensemble des résultats bruts figure en annexe n°2.

Les tableaux qui suivent donnent les couples de résultats des méthodes de référence et alternative après 12 ou 24 heures d'incubation, catégorie par catégorie et avant ou après confirmation des résultats PCR positifs couplés à un résultat ISO négatif.

Après 12 heures d'incubation :

Après 12 heures d'incubation, toutes matrices confondues y compris laits crus, avant confirmation et avant prise de décision d'exclusion des laits crus

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 163	Déviations positives (R-/A+) = 3
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 5	Accord négatif (R-/A-) = 147

Après 12 heures d'incubation, toutes matrices confondues y compris laits crus, après confirmation et avant prise de décision d'exclusion des laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 163	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 5	Accord négatif (R-/A-) = 150

Après 12 heures d'incubation, toutes matrices confondues sans les laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 157	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 1	Accord négatif (R-/A-) = 140

Après 12 heures d'incubation, Produits carnés, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 43	Déviations positives (R-/A+) = 2
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 28

Après 12 heures d'incubation, Produits carnés, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 43	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 12 heures d'incubation, Produits de la mer.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 29	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 1	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 12 heures d'incubation, Produits végétaux, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 31	Déviations positives (R-/A+) = 1
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 29

Après 12 heures d'incubation, Produits végétaux, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 31	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 12 heures d'incubation, Produits divers.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 33	Déviations positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 24 heures d'incubation :

Après 24 heures d'incubation, toutes matrices confondues, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 166	Déviations positive (R-/A+) = 8
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 2	Accord négatif (R-/A-) = 142

Après 24 heures d'incubation, toutes matrices confondues, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 166	Déviations positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 2	Accord négatif (R-/A-) = 150

Après 24 heures d'incubation, Produits carnés, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 43	Déviations positive (R-/A+) = 3
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 27

Après 24 heures d'incubation, Produits carnés, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 43	Déviations positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 24 heures d'incubation, Produits de la mer, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 30	Déviations positive (R-/A+) = 2
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 28

Après 24 heures d'incubation, Produits de la mer, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 30	Déviations positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 24 heures d'incubation, Produits végétaux, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 31	Déviations positive (R-/A+) = 2
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 28

Après 24 heures d'incubation, Produits végétaux, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 31	Déviations positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 24 heures d'incubation, Produits divers, avant confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 33	Déviations positive (R-/A+) = 1
Méthode alternative négative A-	Déviations négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 29

Après 24 heures d'incubation, Produits divers, après confirmation.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R- R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 33	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 30

Cas particuliers des produits laitiers :

Après 12 heures d'incubation, Produits laitiers y compris laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 27	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 4	Accord négatif (R-/A-) = 30

Après 24 heures d'incubation, Produits laitiers y compris laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 29	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 2	Accord négatif (R-/A-) = 30

Considérant le nombre de discordants concernant le lait cru, une vingtaine de tests supplémentaires ont été réalisés spécifiquement sur cette matrice (lait cru) après 12 heures et 24 heures d'incubation.

Les résultats de ces essais complémentaires donnent les résultats suivants :

Après 12 heures d'incubation, Laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 18	Déviations positives (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviations négatives (R+/A-) = 2	Accord négatif (R-/A-) = 0

Après 24 heures d'incubation, Laits crus.

	Méthode de référence positive R+	Méthode de référence négative R-
Méthode alternative positive A+	Accord positif (R+/A+) = 20	Déviaton positive (R-/A+) = 0
Méthode alternative négative A-	Déviaton négative (R+/A-) = 0	Accord négatif (R-/A-) = 0

Au terme de ces essais complémentaires et considérant les premiers résultats, il a été décidé de ne pas valider ce test HQS Salmonella sur les laits crus après 12 heures d'incubation compte tenu du défaut de sensibilité enregistré après ce délai d'incubation court.

2.1.4 Calcul de l'exactitude relative (AC), de la sensibilité relative (SE) et de la spécificité relative (SP).

2.1.4.1 Après 12 heures d'incubation.

Catégorie	PA	NA	ND	PD	Somme N	Exactitude relative AC (%) [100*(PA+N A)]/N	N+ (PA+N D)	Sensibilité relative SE (%) (100*PA/N+)	N- (NA+P D)	Spécificité relative SP (%) 100*NA/N-
Carnés	43	30	0	0	73	100	43	100	30	100
Laitiers	21	20	0	0	41	100	21	100	20	100
de la Mer	29	30	1	0	60	98,33	30	96,66	30	100
Végétaux	31	30	0	0	61	100	31	100	30	100
Divers	33	30	0	0	63	100	33	100	30	100
Total	157	140	1	0	298	99.67	157	99,36	140	100

Après 12 heures d'incubation, à partir de 5 types d'aliments (hors lait cru) :

L'exactitude relative est de 99,67 %

La sensibilité relative est de 99,36%

La spécificité relative est de 100%.

2.1.4.2 Après 24 heures d'incubation.

Catégorie	PA	NA	ND	PD	Somme N	Exactitude relative AC (%) [100*(PA+N A)]/N	N+ (PA+N D)	Sensibilité relative SE (%) (100*PA/N+)	N- (NA+P D)	Spécificité relative SP (%) 100*NA/N-
Carnés	43	30	0	0	73	100	43	100	30	100
Laitiers	29	30	2	0	61	96,72	31	93,54	30	100
de la Mer	30	30	0	0	60	100	30	100	30	100
Végétaux	31	30	0	0	61	100	31	100	30	100
Divers	33	30	0	0	63	100	33	100	30	100
Total	166	150	2	0	318	99,37	168	98,80	150	100

Après 24 heures d'incubation à partir de 5 types d'aliments y compris le lait cru. :

L'exactitude relative est de 99,37 %

La sensibilité relative est de 98,80%

La spécificité relative est de 100%.

L'annexe n°3 présente ces résultats avec les limites de confiance inférieure.

2.1.5 Analyse des discordances.

2.1.5.1 Analyses des discordances après 12 d'incubation.

Selon l'annexe F de la norme NF EN ISO 16140, le nombre de discordant $Y = ND+PD$ est égal à 1 .

Pour cette valeur de Y il n'y a pas d'essai disponible pour comparer les deux méthodes et il en résulte que ces deux méthodes ne sont pas différentes.

L'échantillon discordant est le n°151 filet de cabillaud artificiellement contaminé à 5 UFC/25g par *Salmonella virchow* qui enregistre un résultat positif en méthode alternative après 24 heures d'incubation.

2.1.5.2 Analyses des discordances après 24 heures d'incubation.

Selon l'annexe F de la norme NF EN ISO 16140, le nombre de discordants $Y = ND+PD$ est égal à 2 .

Pour cette valeur de Y il n'y a pas d'essai disponible pour comparer les deux méthodes et il en résulte que ces deux méthodes ne sont pas différentes.

Ces deux résultats discordants sont les laits crus n°74 et 92.

L'échantillon n°74 est un lait cru naturellement contaminé congelé et décongelé.

L'échantillon n°92 est un lait cru artificiellement contaminé avec une souche de *Salmonella rissen* à 3UFC/25g.

Après 12 heures d'incubation les résultats ont été également négatifs.

2.2 Niveau de détection relative

2.2.1 Matrices utilisées

Les couples "matrice - souche" ainsi que la contamination par la flore mésophile de chacune des matrices sont indiqués dans le tableau suivant :

Steak haché	<i>Salmonella hadar</i>	12 000 UFC/g
Lait cru	<i>Salmonella typhimurium</i>	2 500 UFC/g
Saumon fumé	<i>Salmonella virchow</i>	500 UFC/g
Jus de pomme	<i>Salmonella saintpaul</i>	<20 UFC/g
Coule d'oeuf	<i>Salmonella enteritidis</i>	120 000 UFC/g

2.2.2 Protocoles de contamination

Les souches enrichies 24 h à 37°C en bouillon nutritif (1° Mac Farland) ont été dénombrées sur gélose nutritive par dilution décimale.

La dilution utilisée pour ensemercer les matrices permet d'atteindre la concentration de 1UFC/ml.

Cette concentration a été contrôlée par ensemencement de 10 boîtes avec 0,1ml.

Les volumes inoculés ont permis d'atteindre les niveaux théoriques de 0 UFC/25g, 0,25 UFC/25g, 0,50 UFC/25g et 1 UFC/25g.

2.2.3 Résultats.

Les résultats synthétiques de l'étude de détection relative après 12 heures et 24 heures d'incubation pour la méthode alternative d'une part et pour la méthode ISO d'autre part figurent dans le tableau suivant.

Les intervalles de confiance sont donnés par l'application du test de Spearman-Kärber.*

Les niveaux de détection relative de la méthode de référence et de la méthode alternative mise en œuvre à 12 heures et à 24 heures d'incubation sont identiques. Ils sont compris entre 0.175 et 0.675 UFC/25g.

Il convient d'indiquer que ces résultats ont été obtenus avec du bouillon EPT préchauffé à 37°C.

Produit	Souche	Méthode de référence	Méthode alternative après 12h d'incubation	Méthode alternative après 24 d'incubation
Steak haché cru	S hadar	0.275 [0.175 - 0.400]	0.275 [0.175 - 0.400]	0.275 [0.175 - 0.400]
Lait cru	S typhimurium	0.425 [0.275 - 0.675]	0.425 [0.275 - 0.675]	0.425 [0.275 - 0.675]
Saumon fumé	S virchow	0.400 [0.250 - 0.600]	0.400 [0.250 - 0.600]	0.400 [0.250 - 0.600]
Jus de pomme	S saintpaul	0.375 [0.225 - 0.625]	0.375 [0.225 - 0.625]	0.375 [0.225 - 0.625]
Coule d'oeuf	S enteritidis	0.425 [0.275 - 0.675]	0.425 [0.275 - 0.675]	0.425 [0.275 - 0.675]

* "Hitchin A. Proposed Use of a 50% Limit of detection value in defining uncertainty limits in the validation of presence -absence microbial detection methods , Draft 10th december 2003"

Les résultats après application de la règle des arrondis à une décimale sont les suivants :

Produit	Souche	Méthode de référence	Méthode alternative après 12h d'incubation	Méthode alternative après 24 d'incubation
Steak haché cru	S hadar	0.3 [0.2 - 0.4]	0.3 [0.2 - 0.4]	0.3 [0.2 - 0.4]
Lait cru	S typhimurium	0.4 [0.3 - 0.7]	0.4 [0.3 - 0.7]	0.4 [0.3 - 0.7]
Saumon fumé	S virchow	0.400 [0.3 - 0.6]	0.400 [0.3 - 0.6]	0.400 [0.3 - 0.6]
Jus de pomme	S saintpaul	0.4 [0.2 - 0.6]	0.4 [0.2 - 0.6]	0.4 [0.2 - 0.6]
Coule d'oeuf	S enteritidis	0.4 [0.3 - 0.7]	0.4 [0.3 - 0.7]	0.4 [0.3 - 0.7]

[] intervalle de confiance selon la loi de poisson pour le taux inoculé.

Les détails des résultats bruts obtenus pour chacun des couples figurent en annexe n°4

2.3 Inclusivité et Exclusivité.

2.3.1 Inclusivité.

2.3.1.1 Protocole d'essai.

Les souches soumises à l'épreuve d'inclusivité ont été mises en incubation en bouillon EPT préchauffé à 37°C durant 12 heures. L'inoculum utilisé était une dilution à 10⁻⁶ d'une culture en bouillon nutritif de 24 heures à 37°C

2.3.1.2 Résultats Inclusivité

N°	Souches	origines	résultats	Tm	ct	Tmi	cti
I 1	S. typhimurium	intestin	positif	84,6	25,19	87,3	22,8
I 2	S. infantis	placenta	positif	84,7	22,69	86,7	19,62
I 3	S. veneziana	chiffonnettes	positif	84	31,3	86,5	25,94
I 4	S. abaetetuba	pâte à crêpes	positif	83,8	23,6	86,7	20,86
I 5	S. montevideo	placenta	positif	83,9	22,84	86,4	19,54
I 6	S. typhimurium	placenta	positif	84	24,55	86,3	21,22
I 7	S. veneziana	foie/rate	positif	83,9	30,58	86,2	24,94
I 8	S. typhimurium	mucus vaginal	positif	84,2	25,27	86,4	22,11
I 9	S. anatum	fécès/fientes	positif	84,5	22,18	86,9	19,31
I 10	S. enteritidis	fécès/fientes	positif	84,9	23,87	87,5	22,31
I 11	S. typhimurium	fécès/fientes	positif	84	24,46	87,1	23,14
I 12	S. IIIb	intestin	positif	84	31,3	86,8	24,92

I 13	S. haifa	chiffonnettes	positif	84,1	23,41	86,6	20,71
I 14	S. indiana	fécès/fientes	positif	83,7	25,91	86,4	23,76
I 15	S. mbandaka	placenta	positif	83,4	23,13	86,4	21,07
I 16	S. napoli	chiffonnettes	positif	84,2	25,41	87	22,81
I 17	S. coeln	chiffonnettes	positif	84,6	22,78	87,2	21,41
I 18	S. IIIa48	foie	négatif	/	/	87,9	22,36
I 19	S. veneziana	potage	positif	84,6	27,87	87,2	24,25
I 20	S. montevideo	fécès/fientes	positif	84,1	22,12	86,9	19,79
I 21	S. coeln	chiffonnettes	positif	84,5	22,93	86,9	19,98
I 22	S. derby	intestin	positif	84,5	23,04	86,8	20,53
I 23	S. mbandaka	placenta	positif	84,1	22,9	86,7	20,72
I 24	S. newport	fécès/fientes	positif	84,3	23,64	87	21,17
I 25	S. enteritidis	fécès/fientes	positif	85	25	87,3	22,41
I 26	S. kottbus	chiffonnettes	positif	85,1	23,61	87,7	22,47
I 27	S. derby	foie	positif	84,9	23,14	87,3	21,77
I 28	S. typhimurium	chiffonnettes	positif	84,3	27,11	86,9	25,96
I 29	S. typhimurium	chiffonnettes	positif	84,2	26,7	86,7	24,97
I 30	S. kottbus	chiffonnettes	positif	84,5	23,64	86,8	21,34
I 31	S. newport	intestin	positif	84,1	22,49	86,8	20,96
I 32	S. enteritidis	foie/rate	positif	84,6	24,09	86,9	22,83
I 33	S. enteritidis	chiffonnettes	positif	84,9	28,63	87,3	27,31
I 34	S. enteritidis	chiffonnettes	positif	85,1	25,12	87,4	23,66
I 35	S. montevideo	chiffonnettes	positif	84,6	22,33	86,7	20,52
I 36	S. brandenburg	lait	positif	83,8	23,38	86,5	21,41
I 37	S. montevideo	cuisse canard	positif	83,8	25,94	86,5	23,77
I 38	S. bredeney	déchets couvoir	positif	84,3	27,15	86,3	24,64
I 39	S. eboko	rognons	positif	84,2	29,72	86,2	27,45
I 40	S. mbandaka	abats panse	positif	83,9	23,7	86,3	21,79
I 41	S. anatum	Raema	négatif	/	/	86,8	35,37
I 42	S. typhimurium	lait	positif	84,6	22,11	87,3	21,48
I 43	S. enteritidis	fromage	positif	84,5	21,74	87,1	20,94
I 44	S. typhimurium	langue porc	positif	83,7	22,28	86,8	21,18
I 45	S. hadar	paupiettes volaille	positif	84,1	22,83	86,7	20,58
I 46	S. derby	pièce conditionnée	positif	84,1	22,22	86,7	20,41
I 47	S. typhimurium	coeurs canards	positif	83,4	21,97	86,6	20,5
I 48	S. Livingstone	cœur de porc	positif	84,8	23,21	87,2	20,37
I 49	S. rissen	aliment volaille	positif	84,2	23,99	86,7	20,76
I 50	S. IIIb48:k:z	aliment animaux de compagnie	positif	84,3	32,67	86,5	24,01
I 51	S. blockley	blanc de poulet	positif	84,4	24,54	86,3	20,36
I 52	S. virchow	blanc de poulet	positif	84,4	24,09	86,2	20,35
I 53	S. grumpensis	protéine animale transformée	positif	83,8	22,88	86,1	19,57
I 54	S. paratyphi B	environnement élevage	positif	84,1	23,97	86,3	21,22

		poule repro					
I 55	S. bovismorbificans	viande canard	positif	84,5	24,17	86,6	24,08
I 56	S. havana	ait cru de brebis	positif	84,2	23,56	87,4	20,3
I 57	S. heidelberg	environnement élevage poule	positif	84,5	24,18	87	21,06
I 58	S. kedougou	figatelli	positif	83,5	23,93	86,7	20,6
I 59	S. gallinarum	collection	négatif	/	/	86,9	32,99
I 60	S. saintpaul	canard	positif	84	23,91	86,5	20,4
I 61	S. brandenburg	environnement élevage caille	positif	83,3	24,43	86,5	20,97
I 62	S. schwarzengrund	environnement élevage poule	positif	83,4	22,75	86,7	19,67
I 63	S. oranienburg	aliment poulette	positif	84,1	23,99	87,2	21,43
I 64	S. manhattan	saucisse sèche	positif	85,3	24,24	87,6	21,31
I 65	S. IIIb61:k:1,5,7	lait cru de brebis	positif	84,9	35,56	87,2	28,44
I 66	S. regent	abats dinde	positif	84,6	26,98	86,7	24,28
I 67	S. london	figatelli	positif	84,4	23,24	86,7	20,92
I 68	S. senftenberg	environnement élevage poulet label	positif	84	23,87	86,7	21,19
I 69	S. cerro	farine de viande + os	positif	84,5	23,61	86,8	21,08
I 70	S. lexington	environnement élevage volaille	positif	84,7	26,37	86,8	23,75
I 71	S. weltevreden	aliment pour poussin	positif	85,1	23,82	87,2	20,92
I 72	S. tennessee	tourteau soja	positif	85,1	22,97	87,6	21,01
I 73	S. IIIb43:lv:z53	environnement élevage dinde repro	positif	84,9	28,43	87,4	22,17
I 74	S. dublin	lait cru de vache	positif	84,6	25,89	86,9	23,38
I 75	S typhi	collection	positif	84,9	26,5	27,4	24,21
I 76	S paratyphi A	collection	positif	84,4	28,37	86,8	25,77
I 77	S . paratyphi C	collection	positif	84,6	28,56	86,7	25,95
I 78	S arizonae	Lait cru d'alpaga	positif	85,0	35,72	87,7	15,48

Les souches I41 et I59 ont donné des résultats négatifs avec les deux méthodes.

2.3.2 Exclusivité.

2.3.2.1 Protocole d'essai.

Les souches soumises à l'épreuve d'exclusivité ont été mises en incubation en bouillon EPT préchauffé à 37°C durant 24 heures. L'inoculum utilisé était une dilution à 10⁻² d'une culture en bouillon nutritif de 24 heures à 37°C

2.3.2.2 Résultats.

N°	Souches	EPP	Tm	ct	Tmi	cti
E 1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	/	/	87,5	36,37
E 2	<i>Shigella dysenteriae</i>	négatif	/	/	87,2	36,62
E 3	<i>Enterobacter cloacae</i>	négatif	/	/	86,9	19,92
E 4	<i>Proteus mirabilis</i>	négatif	/	/	85,9	19,2
E 5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	négatif	/	/	86,4	18
E 6	<i>Citrobacter freundii</i>	négatif	87,8	41,79	86,7	17,85
E 7	<i>Proteus mirabilis</i>	négatif	/	/	86,1	34,53
E 8	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	négatif	/	/	87,1	35,4
E 9	<i>Shigella</i> sp.	négatif	/	/	87,9	17,8
E 10	<i>Rhodotorula</i> sp.	négatif	/	/	86,9	34,26
E 11	<i>Staphylococcus intermedius</i>	négatif	/	/	86,9	32,95
E 12	<i>Staphylococcus aureus</i>	négatif	/	/	86,5	33,32
E 13	<i>Staphylococcus aureus</i>	négatif	/	/	86,7	32,47
E 14	<i>Bacillus cereus</i>	négatif	/	/	86,9	33,52
E 15	<i>Enterobacter sakazakii</i>	négatif	76,7	37,57	87,4	15,66
E 16	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négatif	/	/	87,5	23,63
E 17	<i>Escherichia coli</i>	négatif	77,2	44,13	88	17,4
E 18	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	négatif	/	/	87,2	17,98
E 19	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	négatif	/	/	87,1	33,05
E 20	<i>Citrobacter freundii</i>	négatif	/	/	87,2	16,81
E 21	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négatif	/	/	87	18,32
E 22	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	/	/	87	31,88
E 23	<i>Escherichia coli</i> hémolytique	négatif	/	/	87,4	15,77
E 24	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	/	/	87,4	31,62
E 25	<i>Staphylococcus aureus</i>	négatif	/	/	87,9	35,52
E 26	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	/	/	87,5	33,36
E 27	<i>Enterobacter cloacae</i>	négatif	/	/	87,5	18,95
E 28	<i>Serratia liquefaciens</i>	négatif	77,7	32,63	87,3	15,18
E 29	<i>Hafnia alvei</i>	négatif	76,7	35,5	87,1	15,75
E 30	<i>Klebsiella oxytoca</i>	négatif	76,8	36,41	86,7	14,69
E 31	<i>Klebsiella oxytoca</i>	négatif	76,7	38,75	87,0	15,97
E 32	<i>Yersinia ruckeri</i>	négatif	/	/	86,4	31,86
E 33	<i>Escherichia vulneris</i>	négatif	76,9	37,12	86,1	16,11
E 34	<i>Rahnella aquatilis</i>	négatif	76,9	37,59	86,6	22,59

E 35	Aerromonas hydrophila	négatif	79,2	32,75	86,7	21,70
E 36	Citrobacter youngae	négatif	/	/	87,7	17,09
E 37	Enterobacter aerogenes	négatif	78,6	35,93	86,8	16,62
E 38	Escherichia fergusonii	négatif	76,7	35,78	86,8	15,19
E 39	Klebsiella oxytoca	négatif	87,6	40,65	86,6	16,00
E 40	Morganella morganii	négatif	76,8	35,34	86,6	15,33
E 41	Proteus penneri	négatif	76,8	43,69	86,0	16,85
E 42	Rahnella aquatilis	négatif	76,7	35,85	86,3	17,49

2.4 Praticabilité.

Critère n°1 : Mode de conditionnement des éléments de la méthode.

Le kit Salmonella HQS comprend deux types d'éléments :

- des éléments conditionnés sous régime du froid négatif (-20°C) comprenant :
les réactifs de lyse et d'amplification PCR et les témoins d'inhibition conditionnés sous différentes formes adaptées aux besoins du laboratoire.

Il importe de vérifier à réception que les réactifs sont congelés (présence de glace carbonique dans le colis) et de les placer immédiatement au congélateur.

- des éléments conditionnés à température ambiante qui concernent l'étape de purification.

Critère n°2 : Volume des réactifs.

Réactifs de lyse et d'amplification

A la demande, l'entreprise ADNucleis conditionne ces réactifs sous différentes formes compatibles avec les besoins du client :

Ce dernier peut souhaiter disposer des **réactifs prêt-à-l'emploi** conditionnés sous contenants adaptés au matériel de PCR en service dans son laboratoire.

C'est ainsi que les réactifs de lyse, d'amplification et les témoins d'inhibition peuvent être conditionnés de la façon suivante :

Réactifs	Format du contenant	Volume	Couleur du plastique
de lyse	Barrette de 8 cupules pré-remplies	30µl par cupule	ambrée
d'amplification	Barrette de 8 cupules pré-remplies	25µl de mixe par cupule	vert
témoin inhibition	Barrette de 8 cupules pré-remplies	25µl de mixe par cupule	mauve

La forme des contenants est adaptée au thermocycleur.

Un format microplaque peut être conditionné à façon.

Le client peut souhaiter conditionner lui même ses propres contenants adaptés à son matériel. Les réactifs sont alors conditionnés en flacon et congelés à -20°C. Après réception et décongélation, le client conditionne lui même ses réactifs sous le format qui convient à ses appareils et re-congèle ces réactifs reconditionnés jusqu'à utilisation.

Les réactifs liés à la purification sont conditionnés de la façon suivante permettant la réalisation de 100 ou de 200 analyses.

Réactifs	Nature du contenant	Volume du contenant	Volume de réactif
tampon de lyse	flacon	60 ml ou 125 ml	55 ml ou 110 ml
tampon de lavage1	flacon	60 ml ou 125 ml	55 ml ou 110 ml
tampon de lavage2	flacon	60 ml ou 125 ml	55 ml ou 110 ml
tampon d'éluion	flacon	30ml ou 60 ml	24 ml ou 48 ml

A côté de ces réactifs, le kit fournit également une colonne de silice et 4 tubes collecteurs par test.

Critère n°3 : Conditions de stockage et péremption des produits non ouverts.

Les réactifs de lyse, d'amplification et les témoins d'inhibition sont à conserver en congélation à -20°C à l'abri de la lumière avec une durée de conservation de 6 mois.

Les réactifs de purification sont à conserver 12 mois à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Critère n°4 : Modalités d'utilisation après première utilisation.

Le matériel et les réactifs fournis dans le kit sont à usage unique à l'exception du tampon de lyse, des deux tampons de lavage et du tampon d'éluion constituant les réactifs de purification. Le pipettage répété dans ces flacons impose de respecter les bonnes pratiques de laboratoire pour prévenir toutes contaminations.

Critère n°5 : Equipements et locaux spécifiques nécessaires.

La mise en œuvre de la technique Salmonella HQS impose de disposer

- d'un thermocycleur ou à défaut de bains marie à sec et d'une centrifugeuse pour la phase d'extraction et de purification.
- d'un thermocycleur en temps réel pour l'amplification et la détection apte à intégrer la fluorescence du Sybrgreen.

S'agissant d'une technologie PCR en temps réel sur support fermé les risques de contamination du matériel et des locaux sont réduits.

La température ambiante du local doit toujours être inférieure à 25°C.

Critères n°6 : Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer.

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Critère n°8 : Temps réel de manipulation et flexibilité de la méthode par rapport au nombre d'échantillons à analyser.

Etape	Temps pour une série de 22 échantillons	Temps théorique pour un échantillon
Préparation, pesée, dilution broyage, mise en incubation	60 minutes	2 minutes 45 secondes
Préparation de la phase de lyse	30 minutes	1 minute 20 secondes
lyse	50 minutes	50 minutes
Préparation et réalisation de la purification	60 minutes	2 minutes 40 secondes
Préparation de la phase d'amplification	15 minutes	40 secondes
Amplification	60 minutes sur Realplex en mode fast.	60 minutes
Lecture, validation interprétation manuelle	Variable selon l'aspect des courbes Temps moyen 30 minutes	1 minute 20 secondes
Total manipulation	2 heures 40 minutes	9 minutes
Total attente	110 minutes	110 minutes
Total	4 heures 30	2 heures

Par série de 22 échantillons, la méthode alternative demande approximativement 9 minutes de manipulation par échantillon.

Par comparaison, la méthode de référence en demande une vingtaine.
Ces données concernent la majorité des échantillons qui sont négatifs.

Pour les échantillons contaminés, il convient d'ajouter les temps de reprise du sac d'enrichissement pour enrichissement sélectif, repiquage et le temps d'identification des colonies suspectes.

En terme de flexibilité, la technique PCR autorise des moments de temporisation après lyse et après purification.

Le fabricant ADNucleis autorise une conservation 1 semaine à 4°C avant amplification ou une conservation sous congélation pour une utilisation ultérieure.

Critère n°9 : Délais d'obtention des résultats.

Etapes d'analyse	Protocole court PCR 12 heures	Protocole long PCR 24 heures	Etapes d'analyse	Délai d'analyse ISO
Enrichissement	J0	J0	Pré-enrichissement	J0
Début de l'extraction purification	J0 + 12h	J1	Enrichissement	J1
Fin de l'amplification	J0 + 17 h		Ensemencement géloses	J2
Obtention du résultat négatif	J0 + 17heures	J1	Obtention du résultat négatif	J3 à J7
Si PCR positive				
Enrichissement	J1	J1		
Ensemencement géloses	J2	J2		
Obtention du résultat positif confirmé	J5 à J7	J5 à J7	Obtention du résultat positif confirmé	J5 à J7

Critère n°11 : Etape commune avec la méthode de référence.

L'étape de pré-enrichissement de la méthode de référence est commune à l'étape d'enrichissement de la méthode alternative dans la mesure où elles partagent le même bouillon EPT à la même température d'incubation.

Sur cette étape commune deux différences existent néanmoins :

Le bouillon EPT doit être pré-chauffé dans la méthode alternative.

L'incubation du bouillon d'enrichissement est limitée à 12 heures dans le protocole court alors qu'il est au minimum de 16 heures en méthode de référence.

A l'inverse, dans la méthode alternative selon le protocole long l'incubation peut être poussée à 24h alors que dans la méthode de référence l'incubation est limitée à 20 heures.

Critère n°12 : Traçabilité des résultats.

Toutes les données techniques contribuant à l'obtention du résultat de la méthode PCR sont enregistrées sur l'informatique du thermocycleur. Ces résultats (Tm, ct, Tmi, cti, allure des courbes de dissociation et d'amplification) sont disponibles et archivables.

Critère n°13 : Maintenance par le laboratoire.

L'appareil doit être maintenu selon les recommandations du fabricant.

Dans l'exercice quotidien, il convient d'intégrer dans chaque série un témoin positif permettant de suivre une carte de contrôle ainsi qu'un témoin mixte afin de prévenir une éventuelle contamination.

Le suivi des T_{mi} et des C_{ti} permet de valider le bon fonctionnement du thermocycleur.
Un décalage vers les valeurs plus élevées des T_{mi} et des C_{ti} doit faire penser à un dysfonctionnement potentiel du thermocycleur.

2.5 Conclusion de l'étude préliminaire.

La méthode HQS Salmonella permet d'obtenir un résultat négatif entre 17 et 29 heures après le début de l'enrichissement avec un niveau de performance similaire à celles de la méthode de référence à l'exception des produits laitiers après 12 heures d'incubation.

C'est une méthode spécifique dont le niveau de détection relatif dans les aliments pour l'homme est identique à ceux de la méthode de référence et varient entre 0.2 et 0.7 UFC/25g. Cette méthode n'est pas validée pour les produits laitiers après 12 heures d'incubation.

3 Etude interlaboratoire

Référentiel de validation.

Le référentiel utilisé pour mener les deux étapes de cette étude de validation est la norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003).

Protocole et principe de la méthode alternative HQS Salmonella.

La méthode HQS Salmonella est une méthode de biologie moléculaire de type PCR (Polymerase Chain Reaction) qui utilise le marqueur Sybgrgreen™ pour sa révélation.

Peuvent être distinguées successivement les étapes suivantes :

- Une étape d'enrichissement en bouillon EPT,

- Une étape d'extraction fondée sur la lyse thermique et enzymatique du bouillon d'enrichissement,

- Une étape de purification d'ADN sur colonne avec membrane filtrante de silice?

- Une étape d'amplification de qPCR en temps réel fondée sur l'utilisation du marqueur fluorescent SYBR Green qui émet une fluorescence lorsqu'il est fixé à l'ADN double brin,

- Une dernière étape de dissociation thermique qui permet de déterminer le T_m ou température de fusion.

La spécificité de cette méthode repose sur l'utilisation d'amorces spécifiques permettant de visualiser une courbe d'amplification et une courbe de dissociation dans un intervalle thermique déterminé.

Protocole de confirmation.

Selon les recommandations du fabricant, les résultats positifs obtenus par la méthode alternative ont été confirmés par les tests biochimiques et sérologiques cités dans la norme NF EN ISO 6579.

Instrument d'amplification utilisé lors de cette étude.

Les résultats de cette étude ont été obtenus sur l'appareil d'amplification Realplex de la société Eppendorf.

.Domaines d'application demandés.

Deux domaines d'application doivent être distingués au terme de la validation :

Après 12 h d'incubation la méthode a été validée pour les produits carnés, les produits de la pêche, les produits végétaux et les produits divers

Après 24 h d'incubation, la méthode a été validée sur les produits carnés, les produits de la pêche, les produits végétaux, les produits divers et les produits laitiers.

Les produits laitiers n'ont pas été validés après 12heures d'incubation.

Méthode de référence.

Les performances de la méthode alternative HQS Salmonella ont été comparées à celles de la méthode de référence NF EN ISO 6579 (décembre 2002) : Méthode horizontale pour la recherche de Salmonella

Le protocole de cette méthode est schématisé en annexe n°1.

3.1 Organisation de l'étude interlaboratoire.

3.1.1 Nombre de laboratoires participants, matrice, souche et nombre d'échantillons.

- L'étude interlaboratoire a été menée avec 10 laboratoires et le laboratoire expert. La liste des laboratoires concernés est en annexe n°5
- Un lait de vache demi-écrémé et pasteurisé a été utilisé comme matrice.
- Une souche de *Salmonella enteritidis* issue d'un produit laitier a été utilisée
- Chaque laboratoire a reçu 26 échantillons dont
 - 24 échantillons de lait pour recherche de Salmonella identifiés de 1 à 24,
 - 1 échantillon de lait pour dénombrement de la flore totale,
 - 1 flacon d'eau pour le suivi des températures durant le transport et la prise de température à l'arrivée.

3.1.2 Modalités de préparation et de contamination des échantillons

Vendredi 11 décembre 2009 :

8 litres de lait de vache demi-écrémé et pasteurisé du commerce ont été mélangés dans des conditions d'asepsie pour obtenir un pool homogène de lait. A partir de ce pool une analyse microbiologique et PCR ont été réalisées pour s'assurer de l'absence de salmonelle avant utilisation.

1 souche de *Salmonella enteritidis* conservée sur cryobilles à -70°C a été remise en suspension dans un bouillon nutritif et placée en incubation à 37°C durant 20 heures. Ce bouillon a été ramené à 1 degré Mac Farland avant d'être dilué selon une raison décimale jusqu'à 10⁻⁸. Après homogénéisation, 3 boîtes de gélose PCA ont été inoculées pour chaque dilution. Après

incubation, les résultats ont montré que le bouillon titrait 30 UFC/ml à la dilution 10⁻⁷. Ce bouillon conservé au froid a été repris pour la préparation de deux dilutions titrant 3 UFC/ml et 30 UFC/ml sous un volume final de 100 ml.

Lundi 14 décembre 2009 :

88 flacons stériles ont reçu un volume de 25 ml de lait et ont été immédiatement fermés de façon hermétique.

176 flacons ont reçu 24 ml de lait. L'ensemble de ces flacons a été mis en chambre froide en attente.

88 flacons contenant 24 ml de lait précédemment préparés ont été sortis de la chambre froide et ont reçu 1 ml de la dilution de 3 UFC/ml pour obtenir un volume final de 25 ml. Ces flacons ont été fermés hermétiquement immédiatement après.

Les 88 derniers flacons de lait ont reçu chacun 1ml de la suspension titrant 30 UFC/ml pour obtenir un volume final de 25 ml. Ces flacons ont été fermés hermétiquement et stockés en chambre froide. L'intégralité de ces opérations de distribution et d'identification a duré 3 heures lundi matin.

3.1.3 Modalités d'expédition.

Pour chaque laboratoire :

8 flacons contenant 25 ml de lait,

8 flacons contenant 24 ml de lait et 1ml de la dilution 3 UFC/ml,

8 flacons contenant 24 ml de lait et 1ml de la dilution 30 UFC/ml,

1 flacon contenant 25 ml de lait pour dénombrement de la flore totale

ont été rassemblés dans des poches plastique hermétiques de bio-sécurité et placés selon les indications du fournisseur Groupemball dans les conditionnements validées AFNOR Certification pour garantir durant le transport une température ambiante dans le conteneur comprise entre 0 et 8°C.

Le flacon d'eau contenant l'enregistreur de températures a été rajouté dans le colis avant fermeture.

Chaque colis a été accompagné des documents regroupant les instructions à suivre. (Annexe n°6)

Les colis ont été confectionnés juste après la fin de la préparation des flacons de lait. L'opération de colisage a été achevée à 13h.

Les colis ont été enlevés par la société TNT à 16 heures pour une livraison le lendemain matin avant midi avec transport à température ambiante.

3.1.3 Eléments nécessaires à la réalisation des essais par les laboratoires collaborateurs.

Réactifs utilisés.

Il avait été convenu avec les laboratoires collaborateurs que chacun utiliserait ses réactifs habituels pour mener à bien les analyses selon les méthodes ISO (salmonelle et flore totale).

Les réactifs nécessaires pour la réalisation des essais en PCR ont été fournis directement par la société ADNucleis à chacun des laboratoires. Il convient de préciser que ces laboratoires avaient auparavant pu mettre en œuvre des kits PCR de la société ADNucleis dans le cadre d'autres validations AFNOR Certification. (E. coli O157 et Cronobacter sakazakii)

Instructions : les instructions ont été préalablement à cette expédition, adressées par courrier électronique à chacun des laboratoires avec l'acte d'engagement à respecter les consignes. (annexe n°6).

Il a été convenu que cette étude interlaboratoire serait réalisée en adoptant une durée d'enrichissement de 16 heures à 37°C (durée intermédiaire entre 12h et 24 h)

3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux.

Tous les colis ont été livrés dans les délais prévus de telle sorte que les laboratoires ont pu initier les analyses le mardi après midi comme prévu.

Les températures relevées à la réception sont comprises entre 0,5 et 7°C.

Les relevés de températures montrent que les températures à l'intérieur des conteneurs sont restées stables entre 0°C et 8 °C durant la durée du transport.

3.3 Résultats.

3.3.1 Flore aérobique mésophile.

Tous les laboratoires collaborateurs et le laboratoire expert ont obtenu un dénombrement de la flore totale inférieur à 10 UFC/ml.

3.3.2 Résultats obtenus par le laboratoire expert.

Le laboratoire expert a obtenu une concordance parfaite entre les résultats de la méthode de référence ISO et les résultats de la méthode alternative PCR.

Les 8 échantillons non contaminés sont négatifs par les deux méthodes.

Les 16 échantillons contaminés sont trouvés positifs par les deux méthodes.

La concordance est de 100%.

Le tableau des résultats du laboratoire expert figure en annexe n°7.

3.3.3 Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Les résultats des laboratoires collaborateurs figurent en annexe n°8.

3.3.3.1 Niveau L0 et L2 (0 UFC/25ml et 30 UFC/25ml)

Parmi les 10 laboratoires collaborateurs tous ont obtenu une concordance parfaite entre les résultats de la méthode de référence ISO et les résultats de la méthode alternative PCR pour :

- les 8 échantillons non contaminés qui sont négatifs par les deux méthodes.

A noter que parmi ces échantillons non contaminés, les laboratoires collaborateurs ont obtenus une dizaine de résultats PCR positifs qui non pas été confirmés, ce qui a permis de rendre le résultat définitif négatif attendu pour ces échantillons

- les 8 échantillons fortement contaminés qui sont positifs par les deux méthodes.

3.3.3.2 Niveau L1 (3UFC/25ml)

4 laboratoires (n°1, n°7, n°8, n°9) ont obtenu une concordance parfaite entre les résultats de la méthode de référence ISO et les résultats de la méthode alternative PCR pour les 8 échantillons concernés. (positif/positif).

2 laboratoires (n°4, n°5) ont également obtenu une concordance parfaite entre les résultats de la méthode de référence ISO et les résultats de la méthode alternative PCR pour 7 échantillons sur 8 sachant que le huitième échantillon de cette gamme s'est avéré négatif avec les deux méthodes (7 positif/positif et 1 négatif/négatif)

2 laboratoires (n°6, n°3) ont également obtenu une concordance parfaite entre les résultats de la méthode de référence ISO et les résultats de la méthode alternative PCR pour 6 échantillons sur 8 sachant que les deux derniers échantillons de cette gamme se sont avérés négatifs avec les deux méthodes. (6 positif/positif et 2 négatif/négatif)

Pour ces 8 laboratoires (n°1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) la concordance entre les deux méthodes est parfaite.

Le laboratoire n°2 a obtenu une bonne concordance entre les deux méthodes pour 7 échantillons sur 8 (5 positif/positif et 2 négatif/négatif) et a observé une discordance pour un échantillon faiblement contaminé qui s'est avéré négatif en PCR et positif en méthode ISO.

Le laboratoire n°10 a obtenu une bonne concordance entre les deux méthodes pour 7 échantillons sur 8 (5 positif/positif et 2 négatif/négatif) et a observé une discordance pour un échantillon faiblement contaminé qui s'est avéré positif en PCR et négatif en méthode ISO. Cet échantillon doit donc être considéré in fine comme négatif par les deux méthodes et le laboratoire n°10 est à regrouper avec les laboratoires n°4 et n°5 au niveau des résultats.

Un seul résultat est discordant, il s'agit de l'échantillon 13 du laboratoire n°2.

3.4 Calculs.

3.4.1 Calcul des pourcentages de spécificité (%SP) et de sensibilité (% SE) pour les deux méthodes.

Calcul de la spécificité :

Rappel $SP = (1 - (FP/N)) * 100\%$ avec FP qui est le nombre de faux positifs et N- le nombre total de tous les essais L0.

Au niveau L0, la spécificité des deux méthodes est de 100%

Calcul de la sensibilité :

Rappel $SE=(TP/N+)*100\%$ avec TP qui est le nombre de vrais positifs et N+ le nombre total de tous les essais L0, L1 ou L2 respectivement.

Au niveau L1, la sensibilité de la méthode de référence est de 88.75%.

Aux niveaux L1+L2, la sensibilité de la méthode de référence est de 94.37%.

Au niveau L2, la sensibilité de la méthode de référence est de 100%

Au niveau L1, la sensibilité de la méthode alternative est de 87.50%.

Aux niveaux L1+L2, la sensibilité de la méthode alternative est de 93.75%

Au niveau L2, la sensibilité de la méthode alternative est de 100%

Spécificité, sensibilité et LCL (limites de confiances inférieures) pour chaque niveau de contamination et le regroupement des niveaux L1 et L2.

Niveau	Méthode de référence		Méthode alternative	
	SP/SE	LCL %	SP/SE	LCL %
L0	SP=100%	/	SP=100%	/
L1	SE=88.75%	82.92%	SE=87.50%	81.40 %
L2	SE=100%	/	SE=100%	/
L1+L2	SE=94.37%	91.36 %	SE=93.75%	90.59

3.4.2 Calcul de l'exactitude relative (AC).

Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence tous niveaux de contamination confondus.(L0+L1+L2) et après confirmation des PCR +

	Résultats ISO POS	Résultats ISO NEG	TOTAL
Résultats PCR POS	PA=150	PD=0	150
Résultats PCR NEG	ND=1	NA=89	90
TOTAL	151	89	240

Le nombre de résultats présomptifs positifs en PCR non confirmés par la méthode de référence est de 11 sur l'ensemble des 240 résultats (10 en L0 et 1 en L1).

Calcul de l'exactitude.

Rappel : $AC = ((PA+NA)/N)*100\%$.

Dans le cadre de cette étude collaborative : **AC = 99.58%**

Le détail de ces couples de résultats pour chaque niveau de contamination figure en annexe n°10.

3.4.3 Etude des résultats discordants.

Selon l'annexe F de la norme NF EN ISO 16140, le nombre de résultat discordant **Y est égal à 1** ($Y=PD+ND$).

Pour $Y < 6$ aucun essai n'est disponible.

Les deux méthodes ne sont pas différentes.

Analyse de discordance :

Le seul échantillon discordant dans cette étude concerne l'échantillon 13 du laboratoire collaborateur n°2 qui a isolé une salmonelle par la méthode ISO mais qui ne l'a pas détectée par la méthode alternative malgré plusieurs reprises.

Cet échantillon a été retourné au laboratoire de Touraine et a été soumis aux analyses par les méthodes alternative et de référence. Les résultats sont positifs et concordants. Il convient d'indiquer que le ct est égal à 40.55 pour un Tm à 82.4. (ct tardif). Il est certain qu'entre le moment où le laboratoire collaborateur et le laboratoire expert ont réalisé les essais il s'est écoulé un laps de temps significatif (15j) qui a pu faire évoluer la concentration du bouillon en *Salmonella*.

- Le nombre de faux positifs détectés par la méthode alternative et non confirmés par la méthode de référence est de 10 pour le niveau L0 dans lequel aucune salmonelle n'avait été introduite,
- Le nombre de faux positifs détectés par la méthode alternative et non confirmés par la méthode de référence est de 1 pour le niveau L1 dans lequel des salmonelles avait été introduites en faible quantité (3 UFC/25ml).

3.5 Interprétation

3.5.1 Comparaison des valeurs d'exactitude relative (AC), de spécificité (SP) et de sensibilité (SE).

	Etude interlaboratoire 16h	Etude préliminaire 12 h d'incubation	Etude préliminaire 24 h d'incubation
AC	99.58 %	99.67 %	99.37 %
SE	99.33%	99.36%	98.80 %
SP	100 %	100 %	100 %

- Méthode alternative : $(PA + PD) / (PA + PD + ND)$
 - SE (PCR) = 99.33 %
- Méthode de référence : $(PA + ND) / (PA + PD + ND)$

- SE (ISO) = 100%

3.5.2 Degré d'accord (DA)

Le détail des degrés d'accord pour la méthode de référence pour le niveau L1 et pour la méthode alternative pour le même niveau sont en annexe n°11

Récapitulatif des DA pour les deux méthodes et les 3 niveaux.

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	100 %	100 %
L1	82.19 %	81.25 %
L2	100%	100 %

3.5.3 Concordance

Les calculs des niveaux de concordance pour les deux méthodes d'analyse pour le niveau de contamination L1.sont rapportés dans les deux tableaux mis en annexe n°12.

Pour les niveaux de contamination L0 et L2 les concordances sont parfaites et identiques.

Récapitulatif des niveaux de concordance pour les deux méthodes et les trois niveaux de contamination.

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	Concordance 100%	Concordance 100%
L1	Concordance 79.79%	Concordance 77.78 %
L2	Concordance 100%	Concordance 100%

3.5.4 Odds Ratio (COR).

Rappel $COR = (DA * (100 - CON)) / (CON * (100 - DA))$

Récapitulatif des Odds Ratio pour les deux méthodes.

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	/	/
L1	COR %= 1.167	COR % = 1.238
L2	/	/

3.5.5 Compléments de praticabilité.

Critère 7 : Durée de formation de l'opérateur.

Il n'est pas possible de s'appuyer sur le vécu des laboratoires collaborateurs ayant participé à cette étude pour évaluer le temps de formation nécessaire pour bien maîtriser la technique alternative car tous avaient déjà manipulé auparavant dans le cadre d'études collaboratives antérieures.

Pour l'avoir testé sur un technicien de microbiologie inexpérimenté en biologie moléculaire, il apparaît qu'il faut entre "une journée et une semaine pour former un agent non initié à la méthode".

Critère 10 : Type de qualification.

S'agissant d'une méthode PCR en temps réel avec une phase d'extraction et de purification le laboratoire expert considère qu'il faut un niveau de formation initial de type BAC + 2 pour maîtriser les points critiques de la méthode dans le cadre d'une démarche qualité.

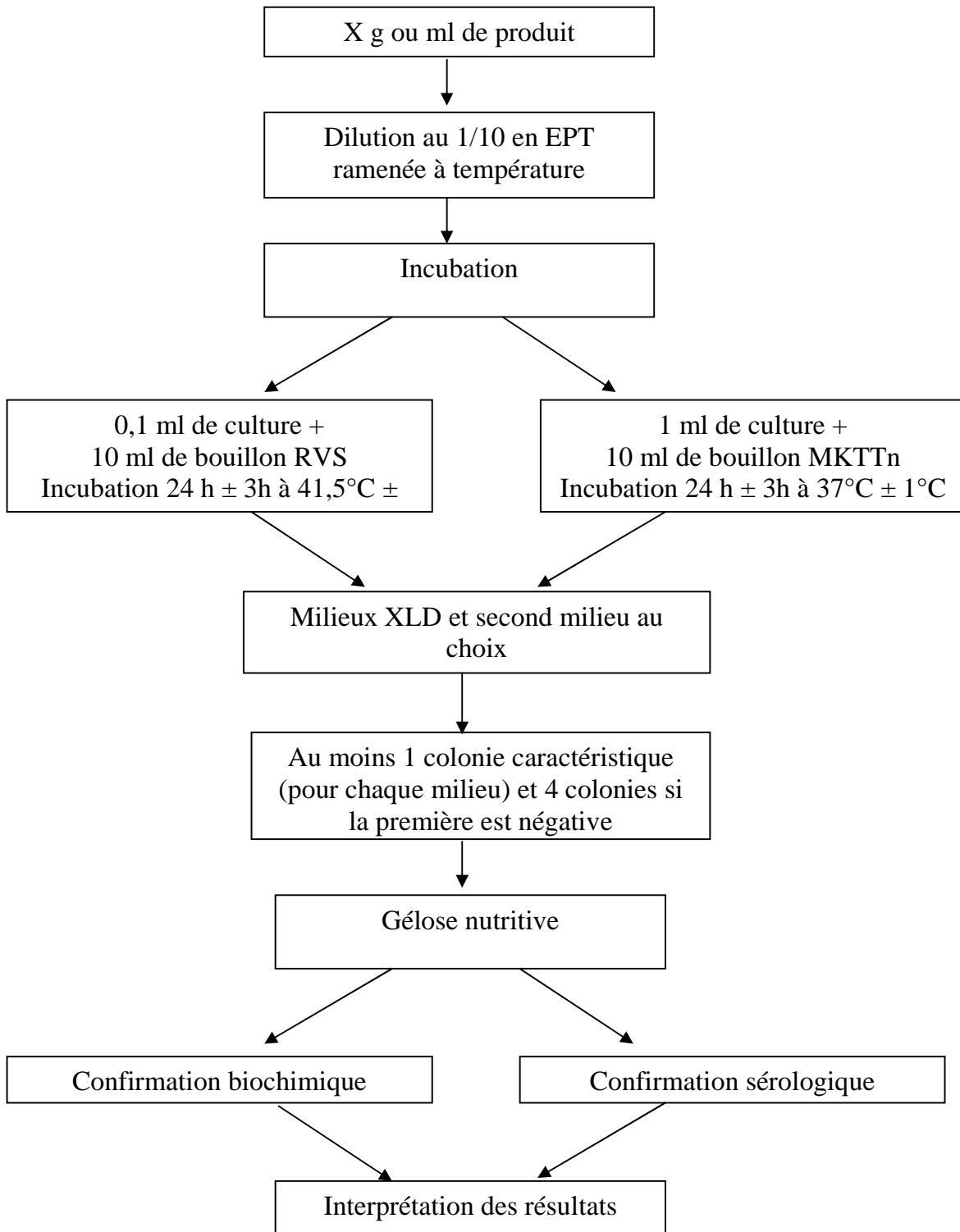
3.5.6 Conclusions de l'étude interlaboratoire

Au regard des résultats des degrés d'accord, des concordances et des odds ratio, il apparaît que la variabilité de la méthode alternative est équivalente à celle de la méthode de référence.

Tours, le 21 avril 2011

José DELAVAL,
Directeur Général

Annexe n°1 :
MODE OPERATOIRE DE LA METHODE NF EN ISO 6579



Annexe n°2 : Résultats justesse, Produits carnés.

n°	échantillon	t	c	souche	q	s	ms	PCR12h	tm	ct	tmi	cti	PCR24h	tm	ct	tmi	cti	ISO
1	haché frais	11	NC	/	/	/	/	positif	84,5	27,92	86,8	21,04	positif	84,5	25,25	87,3	15,08	positif
2	saucisse nature	11	NC	/	/	/	/	positif	85	39,12	86,9	24,26	positif	84,6	32,36	87,6	16,63	positif
3	farce tomate crue	11	NC	/	/	/	/	positif	83,7	31,14	86,6	22,45	positif	83,5	29,65	86,5	20,52	positif
4	steak haché frais	11	NC	/	/	/	/	positif	83,7	34,42	87,3	18,4	positif	84,3	28,65	87,5	16,39	positif
5	saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,5	34,73	86,9	29,54	positif	84,8	39,26	86,4	17,96	positif
6	Escalope de dinde crue	11	NC	/	/	/	/	positif	85,1	36,25	87,6	15,37	positif	84,1	37,12	87,1	17,08	positif
7	Steak haché frais	11	NC	/	/	/	/	positif	84,6	30,85	87,8	18,58	positif	84,9	27,57	88	18,02	positif
8	Chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	85,1	27,02	87,8	15,35	positif	85,1	26,56	87,8	15,97	positif
9	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,1	27,66	86,7	14,79	positif	84,2	24,16	86,8	15,06	positif
10	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,6	26,31	87,5	15	positif	84,6	24,93	87,5	15,73	positif
11	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,3	23,37	87,1	14,3	positif	84,2	22,6	87,1	14,65	positif
12	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,2	28,94	87,1	14,27	positif	83,9	26,49	86,9	15,14	positif
13	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	84,3	25,51	87,4	15,08	positif	84,3	25,17	87,3	15,81	positif
14	farce à tomate	11	NC	/	/	/	/	positif	83,9	26,7	87,1	14,78	positif	84	24,75	86,8	14,87	positif
15	poulet cru	11	NC	/	/	/	/	positif	85,1	23,94	87,8	14,8	positif	84,1	21,27	86,9	14,66	positif
16	poulet cru	11	NC	/	/	/	/	positif	84,5	21,01	86,9	14,37	positif	84,3	19,67	87,2	14,46	positif
17	poulet cru	11	NC	/	/	/	/	positif	84,6	22,75	87,1	14,62	positif	84,6	20,97	87,6	16,08	positif
18	steak haché frais	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	16,02	négatif	/	/	87,1	15,42	négatif
19	boudin noir	11	INC	/	/	/	/	négatif	80,1	42	85,8	26,22	négatif	76,9	42,96	85,9	19	négatif
20	aile de volaille crue	11	NC	/	/	/	/	positif	83,1	36,74	86,8	14,1	positif	84,6	36,12	86,8	14,81	négatif
21	steak haché frais	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	17,24	négatif	/	/	86,7	17,96	négatif
22	steak haché frais	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	16,73	négatif	/	/	86,7	17,49	négatif
23	chair à saucisse	11	NC	/	/	/	/	positif	85,3	39,82	87	15,1	positif	82,7	44,72	87,2	14	négatif
24	noix de porc	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	33,23	négatif	/	/	86,6	34	négatif
25	gigot d'agneau cru	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,5	32,12	positif	82,2	34,68	87,7	32,94	négatif
26	foie frais	11	NC	/	/	/	/	positif	84,3	30,48	87,1	18,1	positif	84	31,29	87,2	19,74	positif
27	chair à saucisse	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	18,22	négatif	/	/	86,9	17,62	négatif
28	gigot d'agneau cru	11	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,5	32,12	négatif	/	/	86,2	20,23	négatif
29	pâté de foie	12	NC	/	/	/	/	positif	84,9	20,51	86,7	21,32	positif	84,3	25,5	86,5	23,14	positif
30	rillettes	12	NC	/	/	/	/	positif	84	22,6	85,9	22,68	positif	83,8	29,56	85,6	24,79	positif
31	rillettes	12	NC	/	/	/	/	positif	84,1	26,46	85,8	25,8	positif	83,8	28,72	85,5	22,58	positif
32	pâté de campagne	12	NC	/	/	/	/	positif	83,6	21,01	86	21,6	positif	83,6	20,29	85,8	19,75	positif

33	feuilleté au jambon	12	NC	/	/	/	/	positif	83,4	20,47	85,8	20,35	positif	83,5	19,3	85,7	19,22	positif
34	rillettes de volailles	12	NC	/	/	/	/	positif	84,5	27,84	86,8	22,96	positif	84,6	22,46	86,7	18,08	positif
35	poulet	12	NC	/	/	/	/	positif	83,4	38,71	87,8	15,33	positif	83,8	40,77	87,8	15,4	positif
36	potée légumes viande	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	30,6	négatif	/	/	86,4	32,07	négatif
37	terrinerie de campagne	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	85,9	33,8	négatif	/	/	86,5	32,39	négatif
38	saucisson à l'ail	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	26,87	négatif	/	/	87,3	21,79	négatif
39	mixé légumes jambon	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	30,43	négatif	/	/	86,7	22,07	négatif
40	cuisse de poulet cuit	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	24,69	négatif	/	/	86,5	18,71	négatif
41	sandwich jambon beurre	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	32,1	négatif	/	/	86,5	33,56	négatif
42	pâté de tête	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,3	25,32	négatif	/	/	86,5	19,67	négatif
43	pâtée de foie	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	31,38	négatif	/	/	86,8	32,46	négatif
44	rillettes du Mans	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,5	31,45	négatif	/	/	87,8	30,96	négatif
45	rillettes de volailles roties	12	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	31,67	négatif	/	/	87,3	31,31	négatif
46	rillettes	12	NC	/	/	/	/	positif	84,4	24,88	86,1	20,18	positif	84,5	21,46	85,6	20,34	positif
47	foie gras de canard	12	NC	/	/	/	/	positif	84,6	33,93	86,9	15,83	positif	84,8	35,7	87,5	22,76	positif
48	Emincé de dinde	12	AC	S. montevideo	6	oui	-20°C	positif	83,5	25,13	86,8	21,62	positif	83,8	15,77	86,5	12,37	positif
49	Poulet rôti	12	AC	S. blockley	6	oui	-20°C	positif	85,3	20,34	87,7	16,31	positif	85	14,76	87,3	11,81	positif
50	Tomates farcies	12	AC	S. blockley	6	oui	-20°C	positif	84,6	18,96	86,9	15,92	positif	84	15,51	86,6	12,36	positif
51	Sauté de dinde provençal	12	AC	S. IIIb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	83,9	26,24	86,7	18,79	positif	84,1	20,4	86,3	14,19	positif
52	steak haché surgelé	13	NC	/	/	/	/	positif	84,4	32,27	86,7	17,23	positif	84,5	29,98	86,7	17,19	positif
53	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	17,74	négatif	/	/	86,9	16,56	négatif
54	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	18	négatif	/	/	86,9	15,98	négatif
55	escalope de dinde	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,7	17,38	négatif	/	/	87,6	16,89	négatif
56	escalope de dinde	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	16,83	négatif	/	/	87,1	17,02	négatif
57	escalope de dinde	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	17,45	négatif	/	/	86,7	16,81	négatif
58	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	17,79	négatif	/	/	87,3	16,97	négatif
59	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	18	négatif	/	/	87,1	17,3	négatif
60	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	17,88	négatif	/	/	87	17,47	négatif
61	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	17,51	négatif	/	/	87,1	16,73	négatif
62	steak haché surgelé	13	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	17,61	négatif	/	/	87,3	17,08	négatif
63	steak haché surgelé	13	NC	/	/	/	/	positif	84,1	33,82	86,6	28,48	positif	84,1	27,76	86,7	23,77	positif
64	Steak haché surgelé	13	AC	S. hadar	7	oui	55°C	positif	84,7	33,91	87,3	15,68	positif	84,6	33,16	87,1	13,01	positif
65	Steak haché surgelé	13	AC	S. weltevreden	5	oui	-20°C	positif	84,7	28,66	87,6	11,84	positif	85,1	23,96	87,6	11,84	positif
66	Steak haché surgelé	13	AC	S. weltevreden	5	oui	-20°C	positif	83	30,58	86,7	12,53	positif	84,6	27,9	87,3	12,06	positif
67	Steak haché surgelé	13	AC	S. weltevreden	5	oui	-20°C	positif	84,4	29,83	86,7	12,81	positif	84,3	27,7	87	11,96	positif

68	Steak haché surgelé	13	AC	S. weltevreden	5	oui	-20°C	positif	84,3	28,64	86,5	12,12	positif	84,3	24,74	86,9	11,76	positif
69	Steak haché surgelé	13	AC	S. lexington	7	oui	-20°C	positif	84,3	29,33	86,5	11,84	positif	84,1	27,34	86,8	11,93	positif
70	Steak haché surgelé	13	AC	S. IIIb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	84,4	30,27	86,7	12,06	positif	84,4	25,62	87	11,8	positif
71	Steak haché surgelé	13	AC	S. IIIb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	84,5	29,1	87,2	12,48	positif	85	24,93	87,6	12,23	positif
72	Steak haché surgelé	13	AC	S. lexington	7	oui	-20°C	positif	84,8	29,71	87,9	12,16	positif	85,2	23,21	87,3	11,83	positif
73	Steak haché surgelé	13	AC	S. schwarzengrund	7	oui	-20°C	positif	83,8	31,42	87,3	15,34	positif	83,6	29,57	86,5	15,55	positif

Annexe n°2 : Résultats justesse, Produits laitiers

n°	échantillon	t	c	souche	q	s	ms	PCR12h	tm	ct	tmi	cti	PCR24h	tm	ct	tmi	cti	ISO
74	lait cru	21	NC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	32,68	négatif	/	/	87,2	23,2	positif
75	lait	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	46,3	86,4	16,72	négatif	/	/	86,5	17,07	négatif
76	lait frais microfiltré	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	32,36	négatif	/	/	87,2	33,39	négatif
77	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	26,53	négatif	/	/	87,1	26,45	négatif
78	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	16,67	négatif	/	/	87	18,28	négatif
79	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	17,36	négatif	/	/	86,9	18,68	négatif
80	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	17,56	négatif	/	/	87	17,83	négatif
81	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	46,38	86,8	19,52	négatif	/	/	86,6	19,54	négatif
82	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	17,15	négatif	/	/	87	18,69	négatif
83	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,5	16,57	négatif	/	33,64	87,6	15,87	négatif
84	lait cru	21	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	88	17,29	négatif	/	/	88	17,26	négatif
85	Lait frais	21	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	84,2	35,64	86,8	32,31	positif	84,8	19,89	87,2	18,17	positif
86	Lait cru de chèvre	21	AC	S. eboko	5	oui	55°C	positif	84,4	36,65	87,2	13,23	positif	83,8	37,95	86,2	18,87	positif
87	Lait cru de chèvre	21	AC	S. eboko	5	oui	55°C	positif	84,3	34,73	86,6	18,68	positif	85,2	36,19	87,7	16,52	positif
88	Lait cru de chèvre	21	AC	S. Illb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	84,1	45,38	87	16,64	positif	84,1	39,79	86	17,59	positif
89	Lait cru de chèvre	21	AC	S. lexington	7	oui	-20°C	négatif	/	>50	86,3	18,88	positif	84,7	41,86	86,6	19,81	positif
90	Lait cru de chèvre	21	AC	S. lexington	7	oui	-20°C	positif	85,7	44,33	86,9	18,08	positif	85,7	39,77	86,1	17,96	positif
91	Lait cru de chèvre	21	AC	S. Illb43 : lu253	8	oui	-20°C	négatif	77	41,51	87,2	16,34	positif	84,7	41,24	86,8	15,38	positif
92	Lait cru de chèvre	21	AC	S. rissen	3	oui	-20°C	négatif	/	/	87,5	17,97	négatif	/	/	86,8	17,99	positif
93	Lait cru de chèvre	21	AC	S. rissen	3	oui	-20°C	positif	84,2	37,92	87,2	18,66	positif	83,4	38,1	86,2	18,33	positif
94	fromage de chèvre	22	NC	/	/	/	/	positif	84,8	36,38	88	22,76	positif	84,7	36,71	87,7	19,79	positif
95	Faiselle lait de chèvre	22	NC	/	/	/	/	positif	85,3	31,55	85,3	28,03	positif	85,1	25,96	87,3	23,57	positif
96	Yaourt sur lit de miel	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	34,53	négatif	/	/	87,1	32,4	négatif
97	yaourt de brebis fruits rouges	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	34,65	négatif	/	/	87,1	32,11	négatif
98	faisselle lait chèvre	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	33,45	négatif	/	/	86,6	32,7	négatif
99	crème fraîche bio	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	31,88	négatif	/	/	86,6	30,7	négatif
100	yaourt brebis nature	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	32,95	négatif	/	/	86,6	31,66	négatif
101	fromage de brebis pour salade	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	31,74	négatif	/	/	86,8	31,52	négatif
102	fromage affiné de chèvre	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	19,7	négatif	/	/	87,4	18,97	négatif
103	fromage frais de chèvre	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,6	28,77	négatif	/	/	87,5	22,82	négatif
104	fromage affiné de chèvre	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	20,08	négatif	/	/	87	19	négatif

105	fromage frais de chèvre	22	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	31,43	négatif	/	/	86,8	31,17	négatif
106	Camembert	22	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	84	30,39	86,9	28,29	positif	84	20,99	87	17,99	positif
107	Coulommier	22	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	84,3	32,33	87,2	19,96	positif	84,4	24,24	84,4	18,81	positif
108	Fromage frais de chèvre	22	AC	S. eboko	5	oui	55°C	positif	84,3	37,29	86,6	31,97	positif	84,8	26,16	87,6	20,04	positif
109	Cœur à cœur (fromage vache)	22	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	84	22,32	86,5	18,45	positif	84,2	19,16	86,3	16,71	positif
110	Caprice des dieux	22	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	83,7	23,55	86,5	16,72	positif	84,2	19,66	86,1	15,85	positif
111	Bûche président chèvre	22	AC	S. bradenburg	7	oui	-20°C	positif	84	22,77	86,7	21,01	positif	84,3	21,24	86,4	22,62	positif
112	Brique (vache)	22	AC	S. bradenburg	7	oui	-20°C	positif	84,3	34,69	87,3	17,79	positif	84,5	26,99	86,7	17,37	positif
113	Fin fou (vache)	22	AC	S. grumpensis	3	oui	-20°C	positif	84,7	25,36	87,9	19,61	positif	84,3	20,57	87,5	18,06	positif
114	Baguette (vache)	22	AC	S. grumpensis	3	oui	-20°C	positif	84,2	31,73	87	30,15	positif	83,8	19,57	87,2	21,13	positif
115	dosette de lait en poudre	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	29,42	négatif	/	/	86,4	31,91	négatif
116	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	30,43	négatif	/	/	87,3	31,88	négatif
117	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,5	31,1	négatif	/	/	87,8	32,01	négatif
118	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,3	31,1	négatif	/	/	86,3	31,69	négatif
119	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	31,42	négatif	/	/	87,1	27,36	négatif
120	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	31,23	négatif	/	>50	87,1	31,03	négatif
121	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	30,34	négatif	/	/	87,1	32,51	négatif
122	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	30,44	négatif	/	/	87	3103	négatif
123	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	30,74	négatif	/	/	87	32,44	négatif
124	poudre de lait	23	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	32,93	négatif	/	/	87	30,99	négatif
125	Lait en poudre (Régilait)	23	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	83,8	33,17	86,1	32,95	positif	83,7	32,57	86,7	31,57	positif
126	Lait en poudre (Régilait)	23	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	83,7	32,7	86,1	33,94	positif	83,7	21,19	86,6	19,6	positif
127	Poudre de lait de chèvre	23	AC	S. dublin	7	oui	55°C	positif	84,6	34,01	87	33,28	positif	85,1	25,66	87,4	26,48	positif
128	Poudre de lait de vache	23	AC	S. hadar	7	oui	55°C	positif	84,5	34,97	86,1	32,6	positif	84,7	29,99	87	20,09	positif
129	Poudre de lait de chèvre	23	AC	S. eboko	5	oui	55°C	positif	84,1	34,82	86,2	30,59	positif	84,4	25,2	86,6	27,43	positif
130	Poudre de lait de vache	23	AC	S. dublin	7	oui	55°C	positif	84,1	33,94	76,9	35,59	positif	84,2	26,93	86,3	25,47	positif
131	Régilait	23	AC	S. seftenberg	8	oui	55°C	positif	83,9	37,59	86,3	31,56	positif	84,2	22,32	86,9	86,9	positif
132	Régilait	23	AC	S. virshow	5	oui	55°C	positif	83,9	36,56	86,4	34,78	positif	84,2	22,36	86,1	86,1	positif
133	Régilait	23	AC	S. schwarzengrund	7	oui	-20°C	positif	83,5	35,74	85,9	34,02	positif	83,3	22,14	86,2	25,12	positif
134	Poudre lait chèvre	23	AC	S. schwarzengrund	7	oui	-20°C	positif	83,6	33,86	86	33,85	positif	83,5	22,89	86,3	23,81	positif

Annexe n°2 : Résultats justesse, Produits de la mer

n°	échantillon	t	c	souche	q	s	ms	PCR12h	tm	ct	tmi	cti	PCR24h	tm	ct	tmi	cti	ISO
135	filet de pangas	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	28,07	négatif	/	/	87,4	17,98	négatif
136	maquereaux	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	21,46	négatif	/	/	86,8	19,98	négatif
137	filet de tilapin	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,3	19,79	négatif	/	/	86,5	18,63	négatif
138	anneaux de calamards	31	INC	/	/	/	/	négatif	76,8	36,34	86,3	21,69	négatif	/	/	86,6	18,17	négatif
139	encornets	31	INC	/	/	/	/	négatif	76,9	34,84	86,2	21,96	négatif	/	/	86,4	19,9	négatif
140	truite pavé	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	20,57	négatif	/	49,38	87	18,9	négatif
141	filet de lieu noir	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	21,79	négatif	/	/	86,2	20,2	négatif
142	filet flétan noir	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,7	21,69	négatif	/	/	87,6	20,9	négatif
143	filet de loup de mer	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	20,92	négatif	/	/	87	20,49	négatif
144	filet de limande meunière	31	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	22,51	négatif	/	/	86,6	21,87	négatif
145	Filet de cabillaud	31	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	85	26,65	87	18,38	positif	84,6	23,46	87,5	14,98	positif
146	Filet loup de mer	31	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	84,4	27,44	87	19,96	positif	84,2	23,75	87	16,98	positif
147	Filet de plie	31	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	84,5	29,14	86,5	19,23	positif	83,8	28,91	86,5	16,43	positif
148	Filet loup de mer	31	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	83,9	34,92	86,5	20,57	positif	84	33,19	86,9	86,9	positif
149	Filet de cabillaud	31	AC	S. seftenberg	8	oui	55°C	positif	84,8	34,9	87,4	17,66	positif	83,5	44,77	87,5	16,96	positif
150	Filet de dorade	31	AC	S. virshow	5	oui	55°C	positif	84,3	36,86	86,3	18,62	positif	84,5	35,74	86,8	86,8	positif
151	Filet de cabillaud	31	AC	S. virshow	5	oui	55°C	négatif	76,8	37,79	86,2	17,03	positif	84,3	35,14	86,7	86,7	positif
152	Filet de dorade	31	AC	S. virshow	5	oui	55°C	positif	84,6	35,78	87,4	18,07	positif	84,6	33,46	87	87	positif
153	Filet de cabillaud	31	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	84,4	35,02	86,6	17,9	positif	83,8	32,42	86,9	86,9	positif
154	Filet de cabillaud	31	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	84,8	37,26	87,2	21,08	positif	84	33,96	87,1	87,1	positif
155	haddock fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,2	31,65	négatif	/	/	86,1	23,51	négatif
156	émincé de saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,9	30,67	négatif	/	/	87,9	19,59	négatif
157	dés de saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	17,17	négatif	/	/	87,3	16,37	négatif
158	poisson pané	32	NC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	18,95	positif	82,2	44,99	86,7	19,94	négatif
159	saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	30,06	négatif	/	/	86,3	17,8	négatif
160	anchois marinés provensal	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,3	32,3	négatif	/	/	86,5	32,3	négatif
161	truite fumée	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	26,17	négatif	80,2	45,69	86,4	19	négatif
162	saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	21,29	négatif	76,8	40,48	86,7	17,04	négatif
163	lardons saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	20,82	négatif	/	/	87	17,72	négatif
164	saumon fumé	32	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	32,33	négatif	/	/	87	19,01	négatif
165	Saumon fumé	32	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C'	positif	84,1	26,7	86,9	23,63	positif	84,5	19,93	86,7	17,28	positif

166	Flétan fumé	32	AC	S. heidelberg	9	oui	55°C	positif	84,9	22,71	87,1	20,87	positif	84,2	16,69	86,5	19,11	positif
167	Saumon fumé	32	AC	S. regent	3	oui	55°C	positif	84	20,59	86,2	21,47	positif	84	17,26	85,8	16,18	positif
168	Truite fumée	32	AC	S. regent	3	oui	55°C	positif	83,8	34,85	86,7	13,73	positif	84,2	28,34	86,4	12,61	positif
169	Saumon fumé	32	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	84,6	15,16	86,9	14,9	positif	84,3	15,26	86,9	14,72	positif
170	Saumon fumé	32	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	83,9	19,95	86,4	19,62	positif	83,7	15,87	86,6	86,6	positif
171	Flétan fumé	32	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	83,9	27,1	86,5	21,78	positif	83,8	19,62	86,6	86,6	positif
172	Truite fumée	32	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	85,4	34,89	88,1	13,75	positif	85	30,74	87,9	87,9	positif
173	Saumon fumé	32	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	85	20,14	87,6	13,61	positif	84,6	15,91	87,6	87,6	positif
174	Truite fumée	32	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	84,7	34,78	87,3	13,9	positif	84,2	35,88	87,3	87,3	positif
175	brochet cuit	33	NC	/	/	/	/	positif	83,9	26,41	86,7	20,56	positif	83,8	24,07	86,5	19,67	positif
176	sandwich thon crudités	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,1	22,67	négatif	/	/	86,1	21,29	négatif
177	saumon	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	31,57	négatif	/	/	87,4	30,56	négatif
178	calamars sauce tomate	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	47,42	86,6	31,65	négatif	/	40,2	86,6	30,48	négatif
179	sauce fruits de mer	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	30,71	négatif	/	/	87,2	31,33	négatif
180	haché de la mer à la tomate	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	32,65	négatif	/	/	87	32	négatif
181	banquet fruit de mer	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	31,44	négatif	/	/	87,3	31,4	négatif
182	terrine de crevettes langoustine	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	32,24	négatif	/	/	87	32,27	négatif
183	crevettes grises	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	21,98	positif	82,9	39,82	86,6	21,04	négatif
184	crevette rose	33	INC	/	/	/	/	négatif	78,3	38,77	87,8	21,39	négatif	/	/	87,7	21,9	négatif
185	couronne de crevette	33	INC	/	/	/	/	négatif	/	34,89 ?	87	30,99	négatif	/	36,21 ?	87,1	31,5	négatif
186	Tarama	33	AC	S. heidelberg	9	oui	55°C	positif	84,3	23,26	86,2	21,15	positif	84,4	17,97	86,7	15,79	positif
187	Croque fromage (poisson pané)	33	AC	S. manhatan	30	oui	55°C	positif	84,5	20,82	86,9	18,67	positif	84,8	18,5	87,1	15,97	positif
188	Terrine 3 poissons	33	AC	S. manhatan	30	oui	55°C	positif	84,9	19,09	87,5	16,77	positif	85,1	17,14	87,3	14,67	positif
189	Terrine aux crevettes	33	AC	S. manhatan	30	oui	55°C	positif	84,3	20,76	86,9	18,11	positif	84,4	17,87	86,4	15	positif
190	Terrine de saumon	33	AC	S. regent	3	oui	55°C	positif	84,1	23,33	86,5	19,89	positif	84,1	17,27	86	14,91	positif
191	Terrine noix de Saint-Jacques	33	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	85,3	19	87,7	16,79	positif	85	16,63	87,5	14,36	positif
192	Terrine de Saint-Jacques	33	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	84,3	31,96	87	16,93	positif	84,4	19,96	87,4	14,88	positif
193	Darne de saumon farcie	33	AC	S. seftenberg	8	oui	55°C	positif	83,7	32,55	87,3	15,32	positif	84,2	16,55	87	87	positif
194	Boudin poisson et Saint-Jacques	33	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	84,4	21,1	86,7	18,11	positif	83,9	15,55	86,6	86,6	positif

Annexe n°2 : Résultats justesse, Produits végétaux

n°	échantillon	t	c	souche	q	s	ms	PCR12h	tm	ct	tmi	cti	PCR24h	tm	ct	tmi	cti	ISO
195	salade gourmande	41	NC	/	/	/		positif	84	29,12	86,1	22,06	positif	83,7	28,02	85,7	21,22	positif
196	salade carotte	41	NC	/	/	/		positif	84,2	35,38	86,4	24,7	positif	85,1	30,2	87,9	17,55	positif
197	cœur de laitue	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,3	19,63	négatif	/	/	86,2	18,22	négatif
198	Mache	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,7	17,5	négatif	/	/	86,7	17,44	négatif
199	epinard	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	87,3	18,56	négatif	/	/	87,3	18,44	négatif
200	champignons de paris	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	87,4	19,59	positif	85,9	41,78	87,4	15,74	négatif
201	tomate fraiche	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,1	29,48	négatif	/	/	86,7	26,83	négatif
202	raisin noir	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,7	32,17	négatif	/	/	86,7	32,18	négatif
203	fraises gariguettes	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,5	25	négatif	76,6	36,34	86,5	16,84	négatif
204	persil	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,3	20,29	positif	82,3	42,98	86,4	19	négatif
205	champignons émincés	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	87,1	16,97	négatif	/	/	87,1	17,02	négatif
206	kiwi	41	INC	/	/	/		négatif	/	/	86,9	27,93	négatif	/	/	87	17,69	négatif
207	salade du chef	41	NC	/	/	/	/	positif	84,4	27,14	86,4	18,84	positif	84,9	24,3	87,2	20,52	positif
208	Carottes rapées	41	AC	S. heidelberg	9	oui	55°C	positif	84,4	21,02	86,3	17,97	positif	84,5	18,52	86,9	16,58	positif
209	Céleri rémoulade	41	AC	S. heidelberg	9	oui	55°C	positif	84,4	24,63	86,6	18,51	positif	84,5	18,49	87	14,06	positif
210	Salade mélangée	41	AC	S. manhatan	30	oui	55°C	positif	84,3	28,75	86,3	12,87	positif	84,7	22,04	87	13,45	positif
211	Céleri rémoulade	41	AC	S. manhatan	30	oui	55°C	positif	84,4	30,07	86,7	14,81	positif	84,4	24,87	87,1	13,51	positif
212	Betteraves rouges	41	AC	S. regent	3	oui	55°C	positif	84	35,62	86,5	30,21	positif	84,2	16,93	86,1	14,86	positif
213	Betteraves rouges	41	AC	S. london	20	oui	55°C	positif	84,4	22,22	86,8	19,62	positif	83,7	16,43	86,4	15,17	positif
214	Salade mélangée	41	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	84,4	34,88	87,7	13,94	positif	84,7	25,54	87,9	13,56	positif
215	Salade mélangée	41	AC	S. virshow	5	oui	55°C	positif	84	32,23	86,6	14,14	positif	84,3	22,68	86,4	86,4	positif
216	céréales adultes SG	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	31,31	négatif	/	/	86,6	33,55	négatif
217	riz germé déshydraté	42	INC	/	/	/	/	négatif	76,8	36,16	87,3	24,21	négatif	/	/	87,2	30,14	négatif
218	soupe à l'oignon	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	18,91	négatif	/	43,87	87,4	17,27	négatif
219	compote de fruits au miel	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	17,12	négatif	/	45,54	86,9	14,93	négatif
220	piment doux en poudre	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	>50?	86,6	20,27	négatif	/	/	86,5	22,86	négatif
221	Raz el hanout en poudre	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,3	16,46	négatif	/	/	87,2	17,75	négatif
222	curcuma poudre	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,8	15,74	négatif	/	/	87,7	15,55	négatif
223	Tofu bio nature	42	INC	/	/	/	/	négatif	77	32,07	87,8	32,84	négatif	/	/	87,8	32	négatif
224	barre de céréales aux abricots	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	30,62	négatif	/	/	87,1	31,01	négatif
225	Frostie (pétales de maïs)	42	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,2	32,36	négatif	/	/	87,5	31,09	négatif

226	Figues sèches	42	AC	S. bradenburg	7	oui	-20°C	positif	84,2	25,26	87,2	24,98	positif	84,5	17,43	87,6	17,79	positif
227	Bananes séchées	42	AC	S. bradenburg	7	oui	-20°C	positif	84,2	27,56	86,6	17,31	positif	84,2	23,88	87,1	19,76	positif
228	Abricots secs	42	AC	S. bradenburg	7	oui	-20°C	positif	83,8	28,19	86,2	27,32	positif	83,8	19,01	86,7	17,67	positif
229	Gingembre séché	42	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	83,8	26,7	86,3	24,97	positif	83,5	16,03	86,4	16,05	positif
230	Trio de raisins secs	42	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	83,7	29,66	86,2	28,64	positif	83,6	18,52	86,5	18,51	positif
231	Dattes	42	AC	S. havana	4	oui	-20°C	positif	83,6	26,35	86,1	25,07	positif	83,7	18,12	86,6	17,53	positif
232	Papayes	42	AC	S. havana	4	oui	-20°C	positif	83,8	28,79	86,2	26,78	positif	83,7	19,14	86,7	18,2	positif
233	Ananas séché	42	AC	S. havana	4	oui	-20°C	positif	83,9	26,24	86,8	24,74	positif	84,1	16,62	87	16,81	positif
234	Pruneaux	42	AC	S. havana	4	oui	-20°C	positif	84,3	38,76	87,5	36,67	positif	84,5	18,45	87,2	19,46	positif
235	Chips pomme	42	AC	S. havana	4	oui	-20°C	positif	83,6	38,22	86,7	22,36	positif	84,1	18,97	86,3	16,23	positif
236	poireau vinaigrette	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	32,56	négatif	/	36,7	87,1	32,96	négatif
237	velouté de tomate	43	INC	/	/	/	/	positif	84,3	33,31	86,4	31,4	négatif	/	/	87	35,51	négatif
238	potage légumes	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	24	négatif	/	/	87,1	22,62	négatif
239	jus d'orange banane carotte	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	32,93	négatif	/	/	87,1	32,94	négatif
240	jus d'orange carotte mangue	43	INC	/	/	/	/	négatif	76,9	36,46	87,7	31,87	négatif	/	/	87,7	32,09	négatif
241	jus framboise mûre	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	30,6	négatif	/	/	86,5	33,44	négatif
242	jus pomme carotte fraise	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	31,03	négatif	/	/	86,7	32,35	négatif
243	jus ananas mangue potiron	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	32,84	négatif	/	/	86,6	32,56	négatif
244	jus orange carotte banane	43	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	31,56	négatif	/	/	86,6	31,39	négatif
245	jus raisin banane rhubarbe	43	INC	/	/	/	/	négatif	76,8	36,04	87	31,15	négatif	/	/	87	32,21	négatif
246	Verrine poire Belle-Hélène	43	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C"	positif	84,2	27,71	87,1	25,82	positif	84,2	21,08	87,2	22,35	positif
247	Jus de fruits (cocktail de fruits)	43	AC	S. seftenberg	8	oui	55°C	positif	84,1	26,8	86,3	23,88	positif	83,6	15,43	86,5	86,5	positif
248	Jus de fruits rouges	43	AC	S. virshow	5	oui	55°C	positif	83,9	23,49	86,3	20,34	positif	84,3	17,02	86,1	86,1	positif
249	Pur jus d'orange	43	AC	S. grumpensis	3	oui	-20°C	positif	83,8	25,17	86,7	23,18	positif	83,4	17,78	86,7	16,83	positif
250	Pur jus pamplemousse blanc	43	AC	S. grumpensis	3	oui	-20°C	positif	83,7	25,84	86,7	23,86	positif	83,5	16,65	86,7	16,21	positif
251	Boisson pomme kiwi	43	AC	S. tennessee	8	oui	-20°C	positif	84,8	24,44	87,3	22,46	positif	85,2	17,26	87,6	17	positif
252	Nectar fruits rouges	43	AC	S. tennessee	8	oui	-20°C	positif	84,8	24,61	86,7	21,71	positif	84,6	17,78	86,8	17,76	positif
253	Nectar multivitaminé	43	AC	S. tennessee	8	oui	-20°C	positif	84,5	24,95	86,3	22,49	positif	84,4	16,97	86,7	16,36	positif
254	Nectar abricot	43	AC	S. tennessee	8	oui	-20°C	positif	84,4	26,54	86,2	23,82	positif	84,4	17,06	86,7	15,61	positif
255	Jus pamplemousse rose	43	AC	S. tennessee	8	oui	-20°C	positif	84,3	23,73	86,2	20,79	positif	84,1	17,1	86,3	16,38	positif

Annexe n°2 : Résultats justesse, Produits divers

n°	échantillon	t	c	souche	q	s	ms	PCR12h	tm	ct	tmi	cti	PCR24 h	tm	ct	tmi	cti	ISO
256	célerie mayonnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	31,83	négatif	/	/	86,6	30,77	négatif
257	piémontaise	51	NC	/	/	/	/	positif	84,3	34,75	87,1	19,97	positif	83,8	33,22	86,6	17,12	positif
258	piémontaise au jambon	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,3	28,52	négatif	/	/	86,4	18,34	négatif
259	Trio choux jambon conté mayo	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	32,84	négatif	/	/	86,6	31,76	négatif
260	mayonnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,3	34,44	négatif	/	/	87,4	31,9	négatif
261	sauce béarnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	32,19	négatif	/	/	87,1	32,73	négatif
262	sauce béarnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87	32,08	négatif	/	/	87	32,35	négatif
263	pâté jambon emmental mayo	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	30,75	négatif	/	/	86,9	30,97	négatif
264	mayonnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	31,9	négatif	/	/	86,6	32,62	négatif
265	mayonnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	31,51	négatif	/	/	86,5	33,32	négatif
266	mayonnaise	51	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	33,58	négatif	/	/	86,4	31,46	négatif
267	Mayonnaise	51	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	84	35,22	86,2	32,22	positif	84	19,88	86,1	17,69	positif
268	Céleri Rémoulade	51	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	84,2	34,48	86,5	30,63	positif	84,3	20,95	86,7	19,44	positif
269	Sauce bourguignonne	51	AC	S. blockley	6	oui	55°C	positif	84	35,8	86,6	33	positif	84,1	25,15	86,3	22,61	positif
270	Sauce poivre	51	AC	S. saintpaul	9	oui	-20°C	positif	84,1	34,49	86,4	30,78	positif	84,9	22,35	84,9	19,43	positif
271	Sauce Béarnaise	51	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	84,5	35,32	87,3	32,61	positif	84,7	23,92	84,7	21,47	positif
272	mayonnaise	51	AC	S. montevideo	6	oui	-20°C	positif	85,1	28,72	86,8	11,53	positif	83,2	28,14	86,2	12,42	positif
273	mayonnaise	51	AC	S. hadar	7	oui	55°C	positif	83,7	35,84	86,6	13,71	positif	84,4	25,68	86,9	14,58	positif
274	mayonnaise	51	AC	S. lexington	7	oui	-20°C	positif	83,8	36,98	86,6	16,44	positif	84,2	36,84	86,7	16,42	positif
275	piémontaise	51	AC	S. dublin	7	oui	55°C	positif	84,3	29,29	86,4	14,25	positif	84,4	22,28	86,9	12,99	positif
276	Céleri Carotte Rémoulade	51	AC	S. hadar	7	oui	55°C	positif	84,2	37,39	86,5	11,93	positif	84,4	29,45	87	12,13	positif
277	gland	52	NC	/	/	/	/	positif	83,5	35,39	86,5	19,33	positif	83,5	34,33	86,5	19,26	positif
278	Ile flottante	52	NC	/	/	/	/	positif	84,4	30,29	86,7	27,12	positif	84,4	19,06	86,7	17,01	positif
279	crème au beurre	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	31,49	négatif	/	/	86,7	32,7	négatif
280	blanc d'œuf	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,7	31,25	négatif	/	/	87,6	20,31	négatif
281	gland	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	29,92	négatif	/	/	86,5	31	négatif
282	nid d'abeille	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,1	22,69	négatif	/	/	87,1	28,74	négatif
283	tariflette	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,8	30,78	négatif	/	/	86,9	32,48	négatif
284	œufs bio marque 1	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	26,26	négatif	/	/	86,4	23,26	négatif
285	œufs bio marque 2	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	32,54	positif	82,7	46,28	86,4	30,84	négatif

286	crème brûlée	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	31,92	négatif	/	/	86,5	31,37	négatif
287	crème anglaise	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	31,07	négatif	/	/	87,4	31,71	négatif
288	crème pâtissière	52	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	32,02	négatif	/	/	87,2	33,01	négatif
289	Pot de crème vanille	52	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	83,9	33,95	86,1	31,69	positif	84,1	20,89	86,9	18,84	positif
290	Crème aux œufs caramél	52	AC	S. cerro	9	oui	55°C	positif	84,5	31,8	87,2	28,77	positif	84,3	19,59	87,3	19,04	positif
291	Ile flottante	52	AC	S. saintpaul	9	oui	-20°C	positif	84,4	30,29	86,7	27,12	positif	84,4	19,06	86,7	17,01	positif
292	Crème aux œufs vanille	52	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	83,9	32,86	86	29,9	positif	84	19,51	86,1	17,4	positif
293	Ile flottante	52	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	83,8	26,1	86,6	22,71	positif	84	20,02	86,4	16,5	positif
294	Ile flottante	52	AC	S. montevideo	6	oui	-20°C	positif	83,5	25,13	86,8	21,62	positif	83,8	15,77	86,5	12,37	positif
295	crème au beurre	52	AC	S. blockley	6	oui	-20°C	positif	84,4	19,44	86,7	16,94	positif	83,8	15,96	86,6	13,07	positif
296	Crème aux œufs caramél	52	AC	S. blockley	6	oui	-20°C	positif	84,5	27,39	86,7	24,15	positif	83,8	13,83	86,6	10,78	positif
297	Ile flottante	52	AC	S. IIIb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	84	25,23	86,8	18,57	positif	84,1	21,29	86,4	15,02	positif
298	Crème aux œufs vanille	52	AC	S. IIIb43 : lu253	8	oui	-20°C	positif	83,9	26,24	86,7	18,79	positif	84,1	20,4	86,3	14,19	positif
299	gourmand chocolat	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	32,11	négatif	77,1	36,22	87,4	32,6	négatif
300	mousse chocolat poire	53	INC	/	/	/	/	négatif	79,6	35,57	87	32,56	négatif	/	/	87	32,49	négatif
301	mousse chocolat noir	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,2	27,84	négatif	/	/	86,4	32,02	négatif
302	mousse chocolat sur ganache	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	32,13	négatif	/	/	86,5	32,24	négatif
303	mousse chocolat noir bio	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	87,4	29,18	négatif	/	/	87,4	28,42	négatif
304	chocolat en poudre nestlé	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,9	35,09	négatif	/	/	86,9	34,5	négatif
305	Mousse chocolat noir	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,7	31,28	négatif	/	/	87	32,39	négatif
306	Mousse au chocolat	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,6	33,58	négatif	/	/	87	30,65	négatif
307	moelleux au chocolat	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,5	31,01	négatif	/	/	86,9	32,31	négatif
308	crème au chocolat et noix de coco	53	INC	/	/	/	/	négatif	/	/	86,4	31,33	négatif	/	/	87	31,12	négatif
309	Mousse chocolat noir	53	AC	S.typhimurium	15	oui	-20°C	positif	84,, 1	30,41	86,3	28,33	positif	84,1	21,16	86,4	19,58	positif
310	Mousse au chocolat	53	AC	S. blockley	6	oui	55°C	positif	83,7	29,07	86,7	26,59	positif	83,7	19,37	86,6	16,85	positif
311	moelleux au chocolat	53	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	84,2	34,85	87,1	26,45	positif	83,8	24,68	86,7	20,22	positif
312	crème au chocolat	53	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	83,6	28,17	86,5	24,45	positif	83,6	21,11	86,4	17,87	positif
313	crème au chocolat	53	AC	S. enteritidis	15	oui	-20°C	positif	83,6	33,83	86,6	28,92	positif	83,5	23,75	86,5	20,8	positif
314	gourmand chocolat	53	AC	S. cerro	9	oui	-20°C	positif	84,3	34,69	87,3	17,79	positif	84,5	26,99	86,7	17,37	positif
315	mousse chocolat poire	53	AC	S. grumpensis	3	oui	-20°C	positif	84,7	25,36	87,9	19,61	positif	84,3	20,57	87,5	18,06	positif
316	chocolat en poudre	53	AC	S. kedougou	6	oui	55°C	positif	84,3	31,96	87	16,93	positif	84,4	19,96	87,4	14,88	positif
317	dessert poire chocolat	53	AC	S. seftenberg	8	oui	55°C	positif	83,7	32,55	87,3	15,32	positif	84,2	16,55	87	87	positif
318	gâteau chocolat praline	53	AC	S. saintpaul	9	oui	55°C	positif	84,4	21,1	86,7	18,11	positif	83,9	15,55	86,6	86,6	positif

Annexe n°3 : calculs de l'exactitude relative avec limites de confiance, à 12h

Catégorie	Types	PA	NA	ND	PD	Somme N	Exactitude relative	LCI	N+	Sensibilité relative	LCI	N-	Spécificité relative	LCL
							AC (%)		PA + ND	SE (%)		NA + PD	SP (%)	
							$[100 \times (PA + NA) / N]$			$[100 \times PA] / N+$			$[100 \times NA] / N-$	
Carnée	Brut	18	10	0	0	28								
	traité chaud	13	10	0	0	23								
	Congelé	12	10	0	0	22								
	Total	43	30	0	0	73	100,00	98	43	100,00	98	30	100,00	98
Laitiers	fermenté	11	10	0	0	21								
	déshydraté	10	10	0	0	20								
	Total	21	0	0	0	41	100,00	98	43	100,00	98	30	100,00	98
.Mer	Brut	9	10	1	0	20								
	Fumés	10	10	0	0	20								
	Déshydratés	10	10	0	0	20								
	Total	29	30	1	0	60	98,33	96	30	96,67	95	30	100,00	98
.Végétaux	Brut	11	10	0	0	21								
	Déshydratés	10	10	0	0	20								
	Jus	10	10	0	0	20								
	Total	31	30	0	0	61	100,00	98	31	100,00	98	30	100,00	98
Divers	Mayonnaise	11	10	0	0	21								
	Ovoproduits	12	10	0	0	22								
	Chocolat	10	10	0	0	20								
	Total	33	30	0	0	63	100,00	98	33	100,00	98	30	100,00	98
TOTAL		136	120	1	0	257	99,61	98	137	99,27	98	120	100,00	98

Annexe n°3 : calculs de l'exactitude relative avec limites de confiance, à 24h

Catégorie	Types	PA	NA	ND	PD	Somme N	Exactitude relative	LCI	N+	Sensibilité relative	LCI	N-	Spécificité relative	LCL
							AC (%)		PA + ND	SE (%)		NA + PD	SP (%)	
							$[100 \times (PA + NA) / N]$			$[100 \times PA] / N +$			$[100 \times NA] / N -$	
Carnée	Brut	18	10	0	0	28								
	traité chaud	13	10	0	0	23								
	Congelé	12	10	0	0	22								
	Total	43	30	0	0	73	100,00	98	43	100,00	98	30	100,00	98
Laitiers	Crus	8	10	2	0	20								
	fermentés	11	10	0	0	21								
	Déshydratés	10	10	0	0	20								
	Total	29	30	2	0	61	96,72	95	31	93,54	89	30	100,00	98
Mer	Brut	10	10	0	0	20								
	Fumés	10	10	0	0	20								
	Déshydratés	10	10	0	0	20								
	Total	30	30	0	0	60	100,00	98	30	100,00	98	30	100,00	98
Végétaux	Brut	11	10	0	0	21								
	Déshydratés	10	10	0	0	20								
	Jus	10	10	0	0	20								
	Total	31	30	0	0	61	100,00	98	31	100,00	98	30	100,00	98
Divers	Mayonnaise	11	10	0	0	21								
	Ovoproduits	12	10	0	0	22								
	Chocolat	10	10	0	0	20								
	Total	33	30	0	0	63	100,00	98	33	100,00	98	30	100,00	98
TOTAL		166	150	2	0	318	99,37	98	168	98,80	97	150	100,00	98

Annexe n°4

Niveau de détection relative 1 (Viande Hachée, flore totale =12 000 CFU/ml)

Matrice	Salmo	UFC /25g	Ech.	PCR 12h	tm	ct	tmi	cti	PCR 12h	PCR 24h	tm	ct	tmi	cti	PCR 24h	ISO
Viande hachée	S.hadar	0	M1	négatif	/	/	87,4	17,12	0	négatif	/	/	87,5	16,94	0	négatif
Viande hachée	S.hadar	0	M2	négatif	/	/	87,2	17,43		négatif	/	/	87,2	17,6		négatif
Viande hachée	S.hadar	0	M3	négatif	/	/	87,7	18,34		négatif	/	/	87,7	17,61		négatif
Viande hachée	S.hadar	0	M4	négatif	/	/	87,2	17,53		négatif	/	/	87,3	18,85		négatif
Viande hachée	S.hadar	0	M5	négatif	/	/	86,9	17,95		négatif	/	/	86,9	17,47		négatif
Viande hachée	S.hadar	0	M6	négatif	/	/	86,7	18,09		négatif	/	/	86,9	17,31		négatif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N1	négatif	/	/	86,7	17,8	3	négatif	/	/	86,7	17,45	3	négatif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N2	négatif	/	/	86,6	17,77		négatif	/	/	86,7	16,57		négatif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N3	négatif	/	/	86,9	17,72		négatif	/	/	86,8	17,36		négatif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N4	positif	84,4	27,67	87,4	13,56		positif	84,5	28,22	87,4	16,81		positif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N5	positif	84,3	24,99	87,3	13,47		positif	84,9	28,32	87,9	17,92		positif
Viande hachée	S.hadar	0,25	N6	positif	84,3	23,92	87,2	13,43		positif	84,5	29,09	87,5	17,63		positif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O1	positif	85,3	27,81	88	17,94	5	positif	84,1	30,43	87,1	24,51	5	positif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O2	positif	84,9	29,64	87,7	18,1		positif	84,1	29	87,1	17,67		positif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O3	positif	84,6	28,23	87,4	17,98		positif	84,1	28,33	87	17,04		positif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O4	positif	84,5	29,77	87,2	17,89		positif	83,8	29,95	87	22		positif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O5	négatif	/	/	87,2	18,43		négatif	/	/	87,3	18,3		négatif
Viande hachée	S.hadar	0,5	O6	positif	84,6	26,37	87,3	14,81		positif	84,5	28,02	87,6	19,2		positif
Viande hachée	S.hadar	1	P1	positif	85,6	22,83	86,8	14,42	6	positif	85,3	27,47	88	18,05	6	positif
Viande hachée	S.hadar	1	P2	positif	84,4	23,89	87,2	14,46		positif	84,9	29,36	87,5	17,85		positif
Viande hachée	S.hadar	1	P3	positif	84,5	23,53	87,2	14,19		positif	84,6	28,24	87,4	17,52		positif
Viande hachée	S.hadar	1	P4	positif	84,5	24,31	87,1	14,48		positif	84,6	29,83	87,3	17,92		positif
Viande hachée	S.hadar	1	P5	positif	84,9	23,94	87,6	14,25		positif	84,5	28,57	86,9	19,07		positif
Viande hachée	S.hadar	1	P6	positif	84,9	24,55	87,7	15,09		positif	84,6	25,91	87,3	17,24		positif

Annexe n°4

Niveau de détection relative 2 (lait, flore totale = 2500 CFU/ml)

Matrice	Salmo	UFC /25g	Ech.	PCR 12h	tm	ct	tmi	cti	PCR 12h	PCR 24h	tm	ct	tmi	cti	PCR 24h	ISO	
Lait	S.typhimurium	0	A1	négatif	/	/	87,3	21,59	0	négatif	/	/	87,2	22,9	0	négatif	0
Lait	S.typhimurium	0	A2	négatif	/	/	86,9	21,01		négatif	/	/	86,7	22,47		négatif	
Lait	S.typhimurium	0	A3	négatif	/	/	86,4	21,2		négatif	/	/	86,4	24,42		négatif	
Lait	S.typhimurium	0	A4	négatif	/	/	86,4	21,35		négatif	/	/	86,5	23,8		négatif	
Lait	S.typhimurium	0	A5	négatif	/	/	86,4	21,22		négatif	/	/	86,2	22,89		négatif	
Lait	S.typhimurium	0	A6	négatif	/	/	86,3	21,08		négatif	/	/	86,1	23,2		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,25	B1	positif	84,5	19,72	86,5	17,37	1	positif	84,1	21,94	86,2	19,72	1	positif	1
Lait	S.typhimurium	0,25	B2	négatif	/	/	87	21,19		négatif	/	/	86,9	21,41		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,25	B3	négatif	/	/	87,5	22,75		négatif	/	/	87,3	20,06		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,25	B4	négatif	/	/	87,1	21,73		négatif	/	/	87	23,14		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,25	B5	négatif	/	/	86,8	21,32		négatif	/	/	86,7	23,11		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,25	B6	négatif	/	/	86,6	21,35		négatif	/	/	86,3	20,3		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,5	C1	positif	83,8	19,91	86,5	20,99	3	positif	83,7	18,88	86,4	20,8	3	positif	3
Lait	S.typhimurium	0,5	C2	positif	83,2	31,75	86,6	20,92		positif	83,7	17,95	86,5	21,63		positif	
Lait	S.typhimurium	0,5	C3	positif	83,7	22	86,9	21,13		négatif	/	/	87	20,97		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,5	C4	négatif	/	/	87,4	18,81		négatif	/	/	87	20,82		négatif	
Lait	S.typhimurium	0,5	C5	négatif	/	/	87,7	22,11		positif	83,1	46,1	87,9	23,62		positif	
Lait	S.typhimurium	0,5	C6	négatif	/	/	87,3	21,72		négatif	/	/	87,2	22,79		négatif	
Lait	S.typhimurium	1	D1	positif	84,4	19,12	87,1	17,58	6	positif	84,4	17,49	87	15,79	6	positif	6
Lait	S.typhimurium	1	D2	positif	84,4	20,14	86,9	17,98		positif	84,3	18,41	87	16,76		positif	
Lait	S.typhimurium	1	D3	positif	84,3	20,51	86,8	18,56		positif	84,12	17,23	86,8	15,46		positif	
Lait	S.typhimurium	1	D4	positif	84,4	18,26	86,8	16,83		positif	84,3	17,82	86,8	15,73		positif	
Lait	S.typhimurium	1	D5	positif	84,5	19,59	87	17,86		positif	84,5	17,6	86,9	16,7		positif	
Lait	S.typhimurium	1	D6	positif	84,9	19,47	87,4	18,07		positif	84,6	18,42	87,4	17,05		positif	

Annexe n°4

Niveau de détection relative 3 (Saumon, flore totale = 500 CFU/ml)

Matrice	Salmo	UFC /25g	Ech.	PCR 12h	tm	ct	tmi	cti	PCR 12h	PCR 24h	tm	ct	tmi	cti	PCR 24h	ISO	
Saumon	S.virchow	0	I1	négatif	/	/	86,6	31,82	0	négatif	/	/	86,8	28,69	0	négatif	0
Saumon	S.virchow	0	I2	négatif	/	/	86,6	32,88		négatif	/	/	86,6	28,86		négatif	
Saumon	S.virchow	0	I3	négatif	/	/	87	25,24		négatif	/	/	86,5	28,95		négatif	
Saumon	S.virchow	0	I4	négatif	/	/	86,4	29,82		négatif	/	/	86,7	30,87		négatif	
Saumon	S.virchow	0	I5	négatif	/	/	86,7	20,88		négatif	/	/	86,7	28,42		négatif	
Saumon	S.virchow	0	I6	négatif	/	/	87,1	32,93		négatif	/	/	87,2	28,74		négatif	
Saumon	S.virchow	0,25	J1	négatif	/	/	87,8	30,56	1	négatif	/	/	87,7	20	1	négatif	1
Saumon	S.virchow	0,25	J2	négatif	/	/	86,8	25,14		négatif	/	/	87	16,87		négatif	
Saumon	S.virchow	0,25	J3	négatif	/	/	86,6	22,89		négatif	/	/	86,6	16,73		négatif	
Saumon	S.virchow	0,25	J4	positif	84,6	16,17	86,7	14,34		positif	84	19,68	86,4	19,39		positif	
Saumon	S.virchow	0,25	J5	négatif	/	/	86,4	30,19		négatif	/	/	86,4	16,71		négatif	
Saumon	S.virchow	0,25	J6	négatif	/	/	86,7	30,42		négatif	/	/	86,8	19,87		négatif	
Saumon	S.virchow	0,5	K1	négatif	/	/	86,7	28,54	4	négatif	/	/	86,7	33,35	4	négatif	4
Saumon	S.virchow	0,5	K2	positif	84,3	16,21	86,1	13,19		positif	84,2	19,21	87,4	17,17		positif	
Saumon	S.virchow	0,5	K3	positif	84,5	16,12	86,4	13,65		positif	84,6	19,64	87,7	16,3		positif	
Saumon	S.virchow	0,5	K4	positif	84,7	22,71	87,2	14,71		positif	85	19,91	87,1	16,59		positif	
Saumon	S.virchow	0,5	K5	positif	84,7	30,14	87,7	16,77		positif	84,6	19,33	86,8	16,57		positif	
Saumon	S.virchow	0,5	K6	négatif	/	/	86,6	23,31		négatif	/	/	86,8	32,11		négatif	
Saumon	S.virchow	1	L1	positif	84,4	16,35	86,8	14,42	6	positif	83,9	19,49	86,7	18,35	6	positif	6
Saumon	S.virchow	1	L2	positif	84,3	16,51	86,8	14,07		positif	84,6	19,48	86,6	16,32		positif	
Saumon	S.virchow	1	L3	positif	84,2	15,83	86,7	13,94		positif	84,7	19,94	86,8	16,85		positif	
Saumon	S.virchow	1	L4	positif	84,1	16,6	86,6	14,38		positif	83,5	19,36	87,5	19,65		positif	
Saumon	S.virchow	1	L5	positif	82,6	22,63	87,4	15,91		positif	85,3	19,53	87,6	17,33		positif	
Saumon	S.virchow	1	L6	positif	82,6	25,83	86,8	13,17		positif	84,8	19,91	87,2	17,02		positif	

Annexe n°4

Niveau de détection relative 4 (jus de pomme, flore totale < 20 CFU/ml)

Matrice	Salmo	UFC /25g	Ech.	PCR 12h	tm	ct	tmi	cti	PCR 12h	PCR 24h	tm	ct	tmi	cti	PCR 24h	ISO	
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q1	négatif	/	/	87,1	34,76	0	négatif	/	/	87,1	32,9	0	négatif	0
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q2	négatif	/	/	87,6	34,6		négatif	/	/	87,2	33,13		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q3	négatif	/	/	87,8	35,5		négatif	/	/	87,6	31,97		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q4	négatif	/	/	87,5	33,8		négatif	/	/	86,8	33,19		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q5	négatif	/	/	87,2	32,74		négatif	/	/	87,3	33,5		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0	Q6	négatif	/	/	87	33,39		négatif	/	/	86,9	33,91		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R1	positif	85,3	35,44	87,3	21,51	2	positif	84,5	19,35	86,8	17,28	2	positif	2
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R2	négatif	/	/	86,7	29,38		négatif	/	/	86,8	30,58		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R3	négatif	/	/	86,9	30,38		négatif	/	/	87	30,57		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R4	positif	84,4	35,51	80,6	21,64		positif	85	19,05	87,4	16,81		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R5	négatif	/	/	87,2	30,13		négatif	/	/	87,3	28,15		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,25	R6	négatif	/	/	86,6	30		négatif	/	/	86,7	27,62		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S1	positif	84,1	25,26	86,1	22,31	3	positif	84,4	18,81	86,5	17,14	3	positif	3
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S2	négatif	/	/	86	32,16		négatif	/	/	86,3	27,51		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S3	positif	84,3	22,97	86,2	19,05		positif	84,3	19,14	86,3	17,42		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S4	positif	84,9	22,13	86,1	20,23		positif	84,3	18,97	86,1	17,14		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S5	négatif	/	/	86,3	30,04		négatif	/	/	86,2	27,49		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	0,5	S6	négatif	/	/	86,6	30		négatif	/	/	86,8	27,64		négatif	
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T1	positif	85	22,63	87,2	21,05	6	positif	84,8	19,32	87,4	18,23	6	positif	6
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T2	positif	84,5	21,82	87,1	19,33		positif	84,5	18,88	87,3	17,96		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T3	positif	84,2	22,02	86,8	19,95		positif	84,3	19,34	86,8	18,02		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T4	positif	84,2	22,14	86,7	19,55		positif	84,1	19,11	86,8	17,66		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T5	positif	83,9	22,26	86,5	19,79		positif	83,9	19,24	86,7	17,7		positif	
Jus de pomme	S.saintpaul	1	T6	positif	83,9	21,72	86,5	19,51		positif	83,9	19,23	86,6	17,53		positif	

Annexe n°4

Niveau de détection relative 5 (œuf, flore totale = 120 000 CFU/ml)

Matrice	Salmo	UFC /25g	Ech.	PCR 12h	tm	ct	tmi	cti	PCR 12h	PCR 24h	tm	ct	tmi	cti	PCR 24h	ISO	
Œuf	S.enteritidis	0	E1	négatif	/	/	87,9	34,09	0	négatif	/	/	87,7	34,49	0	négatif	0
Œuf	S.enteritidis	0	E2	négatif	/	/	87,3	32,68		négatif	/	/	87,5	36,77		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0	E3	négatif	/	/	87,2	33,93		négatif	/	/	87,2	36,16		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0	E4	négatif	/	/	86,9	33,41		négatif	/	/	87,1	33,99		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0	E5	négatif	/	/	87	33,33		négatif	/	/	87,1	34,52		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0	E6	négatif	/	/	86,9	33,51		négatif	/	/	87,5	33,88		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,25	F1	négatif	/	/	86,9	23,22	1	négatif	/	/	87,1	31,2	1	négatif	1
Œuf	S.enteritidis	0,25	F2	négatif	/	/	87,5	33,34		négatif	/	/	87,6	33,81		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,25	F3	négatif	/	/	87	33,77		négatif	/	/	87	32,91		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,25	F4	positif	85	29,84	87,5	29,52		positif	84,6	21,98	86,8	24,22		positif	
Œuf	S.enteritidis	0,25	F5	négatif	/	/	86,6	34,89		négatif	/	/	86,5	34,13		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,25	F6	négatif	/	/	86,5	34,8		négatif	/	/	86,5	32,76		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,5	G1	négatif	/	/	86,2	22,63	3	négatif	/	/	86,1	19,59	3	négatif	3
Œuf	S.enteritidis	0,5	G2	négatif	/	/	86,3	35,33		négatif	/	/	86,3	25,69		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,5	G3	positif	84,1	18,5	86,8	24,52		positif	83,5	19,36	86,2	18,92		positif	
Œuf	S.enteritidis	0,5	G4	positif	84,6	23,4	87,2	22,02		positif	84,8	21,77	86,6	19,2		positif	
Œuf	S.enteritidis	0,5	G5	négatif	/	/	87,2	23,12		négatif	/	/	87,3	22,03		négatif	
Œuf	S.enteritidis	0,5	G6	positif	84,9	26,02	87,1	24,89		positif	84,4	21,47	87,1	21,37		positif	
Œuf	S.enteritidis	1	H1	positif	83,9	18,61	86,5	18,67	6	positif	84,1	21,31	86,7	21,3	6	positif	6
Œuf	S.enteritidis	1	H2	positif	84	19,98	86,7	19,42		positif	83,5	20,85	86,9	21,5		positif	
Œuf	S.enteritidis	1	H3	positif	83,6	18,71	86,2	18,44		positif	83,9	21,66	86,6	21,21		positif	
Œuf	S.enteritidis	1	H4	positif	83,8	18,61	86,4	17,8		positif	83,8	21,51	86,5	21,24		positif	
Œuf	S.enteritidis	1	H5	positif	84,8	25,78	87,1	22,79		positif	84,9	22,3	87,3	20,61		positif	
Œuf	S.enteritidis	1	H6	positif	85,2	24,7	87,3	21,15		positif	84,7	21,61	86,8	19,73		positif	

Annexe n°5

Liste des laboratoires collaborateurs

Nom Laboratoire	Adresse	CP	Ville	Téléphone	Fax
Laboratoire Vétérinaire Départemental	13, rue Gay Lussac	25020	BESANCON CEDEX	0381258850	0381258851
Laboratoire Départemental d'Analyses	Rue du Lycée Agricole-Choignes	52900	CHAUMONT CEDEX 09	0325303170	0325303179
Service du Laboratoire Départemental	Rue de la Fosse aux Loups	58028	NEVERS CEDEX	0386719380	0386367267
Laboratoires des Pyrénées	Rue des Ecoles	64150	LAGOR	0559602385	0559607447
Laboratoire Départemental d'Analyses	2, place de l'Abattoir	67200	STRASBOURG	0390206520	0390206536
IDHESA Bretagne Océane	22 avenue de la Plage des Gueux, ZA de Creach Gwen	29334	QIMPER Cedex	0298102888	0298102860
IDAC	Route de Gachet	44327	NANTES CEDEX 3	0251854444	0251854450
Laboratoire Départemental d'Analyses	Boulevard George Sand	36018	CHATEAUROUX CEDEX	0254220185	0254071790
Laboratoire Départemental - d'Analyses et de Recherche	161, av Winston Churchill	24660	COULOUNIEIX CHAMIERES	0553068000	0553098822
ISHA	25 avenue de la République	91300	MASSY	0169754558	

Annexe n°6

RECOMMANDATIONS AUX LABORATOIRES PARTICIPANTS **A L'ETUDE COLLABORATIVE** **POUR LA VALIDATION AFNOR CERTIFICATION** **DU TESTS HQS PCR SALMONELLE** **DANS TOUTES MATRICES ALIMENTAIRES.**

1 Les échantillons

nombre :

26 échantillons dont

1 échantillon pour analyse flore totale aérobie mésophile.

24 échantillons pour analyse *salmonella* en méthode ISO et PCR

1 échantillon pour contrôle de température

nature :

1 flacon d'eau pour le contrôle de la température durant le transport et à réception

25 flacons de lait thermisé dont

1 flacon pour flore totale aérobie mésophile.

8 flacons *Salmonella* négatif

16 flacons *Salmonella* artificiellement contaminés dont

8 à un niveau de 3 UFC/25 ml

8 à un niveau de 30 UFC/25ml

nature du contaminant : *Salmonella enteritidis*

2 Calendrier

Les échantillons seront conditionnés et éventuellement artificiellement contaminés le lundi 14/12/2009.

Les colis seront expédiés lundi après-midi sous régime du froid positif par TNT. Réception prévue chez vous le mardi matin.

Conservation des échantillons avant analyse à $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Induction des analyses le mardi après-midi .

Pensez à préchauffer 6 litres d'EPT à 37°C en début de matinée mardi 15/12/2009.

3 Contrôles à réception du colis.

Dès réception du colis, merci de :

vérifiez le bon état du colis et son contenu.

prendre la température du flacon d'eau et retranscrire cette température avec une décimale sur le bon de réception.

récupérez le bouton enregistreur dans ce même flacon et utilisez l'enveloppe T réponse jointe au colis pour retourner cet enregistrement au laboratoire de Touraine.

Renseignez le bon de réception , signalez toute anomalie éventuelle et expédiez par mail le au Laboratoire de Touraine
Stocker les échantillons au froid 4°C ± 2°C avant analyse.

4. Analyses mardi après midi

Analyse de la flore totale aérobie mésophile sur l'échantillon réservé à cet effet.

Analyses Salmonella :

Etape de préparation

La méthode de référence ISO NF EN ISO 6579 et la méthode alternative candidate à la validation AFNOR Certification partagent une étape commune lors de l'induction de l'analyse.

Cette étape commune consiste en la dilution des 25 ml d'échantillon de lait dans 225 ml de bouillon EPT préchauffé à 37°C.

Les 24 échantillons pour analyse Salmonella doivent suivre cette étape de préparation. et d'homogénéisation.

Etape d'incubation

Les sacs sont placés en étuve à 37°C ± 1°C durant **16 heures**.

5 Analyses du mercredi.

Au terme d'une phase d'incubation **de 16heures** les sacs sont sortis de l'étuve pour les étapes suivantes :

Analyse PCR : extraction, purification , amplification selon le protocole ADNucleis. Respectez scrupuleusement le protocole du fabricant fourni en fichier joint. Signalez le cas échéant les modifications apportées.

Et en parallèle,

Suite de l'analyse de référence ISO EN NF 6579 Respectez scrupuleusement les termes de la méthode ISO. Signalez le cas échéant les modifications apportées.

6 Analyses des jours suivants

Suite des analyses bactériologiques avec passage sur boîtes XLD et gélose au choix (précisez la gélose choisie)

Confirmation biochimiques des colonies après passage sur gélose nutritive. Il est inutile de mener l'étape d'identification sérologique.

La confirmation des résultats positifs en méthode PCR est assurée par la réalisation en parallèle sur tous les échantillons de la méthode ISO.

7 Transmission des données au Laboratoire de Touraine.

Merci de nous retourner votre acte d'engagement dans la lettre T réponse.

Merci de nous retourner le thermobouton avec la fiche de réception papier renseignée à l'aide de l'enveloppe T réponse.

Merci de nous expédier par e-mail mercredi si possible la fiche des résultats avec les données PCR renseignées (résultats partiels)

Transmettre par e-mail les résultats définitifs à l'aide de la fiche résultats au terme des analyses microbiologiques. jdelaval@cg37.fr

8 Traitement des éléments liés aux analyses.

Conservez les sacs stomacher en réfrigération

Conservez à -18°C les extraits d'ADN purifié

Conservez les boîtes de Petri et les tubes d'enrichissement en réfrigération.

Lorsque le laboratoire de Touraine aura pu expertiser vos résultats vous recevrez de sa part l'autorisation de destruction de ces éléments.

9 Facturation de votre travail.

Après accord avec le fabricant ADNucleis, il a été jugé plus facile de vous laissez utiliser vos propres milieux et réactifs pour les analyses microbiologiques selon la norme ISO plutôt que de vous fournir ces consommables.

En contre partie la société ADNucleis réglera les frais occasionnés par votre laboratoire lors de cette étude collaborative sur présentation d'une facture.

10 Vos contacts

S'agissant de la mise en œuvre du kit PCR vous trouverez réponses si besoin à vos questions auprès de :

la société ADNucleis

Loïc Aldebert ou Philippe Figwer 04/78/57/16/40 p.figwer@adnucleis.com

du Laboratoire de Touraine

Aurélie Chassin 02/47/29/44/47 poste 69733 achassin@cg37.fr

Pour la partie microbiologique contacter le cas échéant au Laboratoire de Touraine Nicolas Gaillard ou Yannick Dureuil : 02/47/29/44/47 postes 69734 et 69768, ngaillard@cg37.fr et ydureuil@cg37.fr

INCIDENTS :

Si vous ne receviez pas comme prévu le colis avant midi merci de nous prévenir sans délai.

Nicolas Gaillard 02/47/29/44/47 poste 69734

Si le colis vous parvient en fin de journée assurez la réception et reportez au lendemain l'induction des essais en prenant soin de réfrigérer les prélèvements.

Si à réception la température du flacon d'eau dépassée les 8°C initiez les analyses. La lecture du thermobouton nous renseignera à posteriori sur l'importance de la rupture du froid.

MERCI POUR VOTRE COLLABORATION

José Delaval

Annexe n°7

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
										AB7500
Identité du laboratoire expert : Laboratoire de Touraine										
date et heure de début d'analyse : le 15/12/2009 - 10h										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				Conclusion
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	
1	-	/	/	85,9	29,74	-	-	-	-	-
2	-	76,3	41,21	86,3	30,15	-	-	-	-	-
3	-	78,6	>50	86,3	29,74	-	-	-	-	-
4	-	82,8	42,58	86,6	29,18	-	-	-	-	-
5	-	74	37,9	86,6	29,06	-	-	-	-	-
6	-	72,7	>50	86,3	29,36	-	-	-	-	-
7	-	77,6	47,95	85,9	30,68	-	-	-	-	-
8	-	/	>50	85,9	29,47	-	-	-	-	-
9	+	83,2	18,54	85,7	13,22	+	+	+	+	+
10	+	83,2	18,46	85,7	12,48	+	+	+	+	+
11	+	83,2	19,38	85,7	13,23	+	+	+	+	+
12	+	83,8	18,19	86,3	12,1	+	+	+	+	+
13	+	83,8	17,64	86,9	12,3	+	+	+	+	+
14	+	83,5	18,52	85,9	12,12	+	+	+	+	+
15	+	83,2	18,07	85,9	11,58	+	+	+	+	+
16	+	83,2	18,1	85,7	12,22	+	+	+	+	+
17	+	83,2	18,27	85,7	12,67	+	+	+	+	+
18	+	83,5	18,26	85,9	12,66	+	+	+	+	+
19	+	83,5	18,21	85,9	12,47	+	+	+	+	+
20	+	83,8	18,06	86,3	12,26	+	+	+	+	+
21	+	83,5	18,09	85,9	12,42	+	+	+	+	+
22	+	83,2	18,16	85,9	12,56	+	+	+	+	+
23	+	83,2	18,39	85,7	12,43	+	+	+	+	+
24	+	82,9	18,09	85,7	12,05	+	+	+	+	+
témoin +	+	83,8	30,41	86,6	22,58	Code identique de toutes les galeries API 20 E : 6704552				présence ou absence
témoin -	-	75,1	45,15	86,6	33,25	+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				
identité du second milieu d'isolement choisi : ASAP										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 6 H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 30 min										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie <10 UFC/ml										

Annexe n°8

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°1							AB7500			
date et heure de début d'analyse : le 15/12/2009 - 16H										
Test PCR HQS salmonella						Résultats de la méthode ISO 6579				
n°éch.	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD /RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	75,6	47,2	86,3	27,9	-	-	-	-	-
2	-	72,7	38,9	86,3	27,7	-	-	-	-	-
3	-	74	36	86,3	27,1	-	-	-	-	-
4	-	73,5	41,3	86,5	30,7	-	-	-	-	-
5	-	74,7	40,5	86,5	27,8	-	-	-	-	-
6	-	73,1	38,5	86,5	28	-	-	-	-	-
7	-	75	36,4	86,3	27,1	-	-	-	-	-
8	-	73,3	38,5	86,3	26,8	-	-	-	-	-
9	+	83,6	17,6	86	14,1	+	+	+	+	+
10	+	83,6	17	86,3	14	+	+	+	+	+
11	+	83,6	17,3	86,3	14	+	+	+	+	+
12	+	83,6	17,1	86,3	13,9	+	+	+	+	+
13	+	83,5	17,4	86	14	+	+	+	+	+
14	+	83,3	17,4	86	14,1	+	+	+	+	+
15	+	83,3	17,2	85,7	13,9	+	+	+	+	+
16	+	83,3	17	85,9	14	+	+	+	+	+
17	+	83,6	17,2	85,9	14	+	+	+	+	+
18	+	83,6	17,5	86	14	+	+	+	+	+
19	+	83,7	17,1	86,3	13,9	+	+	+	+	+
20	+	83,6	16,8	86	13,8	+	+	+	+	+
21	+	83,6	17	86	14	+	+	+	+	+
22	+	83,3	17	85,7	14	+	+	+	+	+
23	+	83	16,8	85,4	14	+	+	+	+	+
24	+	83,2	17	85,6	14	+	+	+	+	+
témoin +	+	83,4	30,1	86,3	21,9	Code identique de toutes les galeries API 20 E : 6704552				
témoin -	-	74,6	45,7	86,3	32,1					
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : Compass Salmo de chez Biokar										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 5 H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 35 min										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 H (PCR) et 18 H (ISO)										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie <1 UFC/ml (selon ISO 4833)										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°2									AB7500	
date et heure de début d'analyse : 15/12/2009 14h00										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	68,9	49,5	85,6	26,5	-			-	-
2	-	82,4	44,7	86	27,1	-			-	-
3	-	73,9	38,4	86,3	27,8	-			-	-
4	-	82,8	45,7	86,3	27,2	-			-	-
5	-	72,4	49,7	86,3	22,6	-			-	-
6	-	72,8	41,1	86,3	28,4	-			-	-
7	-	73,9	41,1	86	27,7	-			-	-
8	-	79,9	39,2	86,3	28,6	-			-	-
9	+	83,1	19,4	85,6	14,2	+			+	+
10	+	83,5	19,4	85,6	14,3	+			+	+
11	-	66,1	49,7	86,3	27,7	-			-	-
12	+	83,5	25,9	86	18,3	+			+	+
13	-	65,8	47,9	86,7	27,2	+			+	+
14	+	83,5	17,6	86	14	+			+	+
15	-	72,4	40,2	86,3	28	-			-	-
16	+	83,1	19,4	85,6	14,7	+			+	+
17	+	83,1	17	85,6	13,9	+			+	+
18	+	83,5	17	86	14	+			+	+
19	+	83,5	17	86	14	+			+	+
20	+	83,8	16,6	86	13,9	+			+	+
21	+	83,8	17,4	86,3	14	+			+	+
22	+	83,5	17,4	86	14	+			+	+
23	+	83,5	25,1	86,7	12,9	+			+	+
24	+	83,5	17,5	85,6	14	+			+	+
témoin +	+	83,5	29,3	86,3	22					
témoin -	oubli									
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API : 6665 0240 711 et 6665 0260 711 pour les échantillons 9, 12 et 14				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : ASAP										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 2 à 3 heures (réception EPT tardive)										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 1h30										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 17h										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie = 0 UFC/ml										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n° 3									AB7500	
date et heure de début d'analyse : 15/12/2009 18h00										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	74		86,1	30,2	-	-	-	-	-
2	-	72	47,3	86,5	30,5	-	-	-	-	-
3	-	83,1	44,5	86,8	31,3	-	-	-	-	-
4	-	72,4	46,3	86,8	29,9	-	-	-	-	-
5	-	74,4	39,5	86,8	30,2	-	-	-	-	-
6	-	80,1	47,3	86,8	30,9	-	-	-	-	-
7	-	83,4	36,4	86,5	30,4	-	-	-	-	-
8	-	72,4	40	86,5	30,5	-	-	-	-	-
9	+	83,4	19	85,8	14,6	+ API 6704552	+	+	+	+
10	+	83,4	19,5	85,8	15,1	+ API 6704552	+	+	+	+
11	+	83,8	18,4	86,1	14,3	+ API 6704552	+	+	+	+
12	-	74,7	37,6	86,8	30,4	-	-	-	-	-
13	+	83,8	18,3	86,1	14,2	+ API 6704552	+	+	+	+
14	-	76	39,5	86,5	29,6	-	-	-	-	-
15	+	83,4	28,1	86,1	23,5	+ API 6704552	+	+	+	+
16	+	83,4	19,1	85,8	14,6	+ API 6704552	+	+	+	+
17	+	83,1	18,4	85,8	14,1	+ API 6704552	+	+	+	+
18	+	83,4	18,5	86,1	14,3	+ API 6704552	+	+	+	+
19	+	83,8	18,2	86,1	13,9	+ API 6704552	+	+	+	+
20	+	83,8	18,1	86,1	13,9	+ API 6704552	+	+	+	+
21	+	83,8	18,2	86,1	14,1	+ API 6704552	+	+	+	+
22	+	83,8	17,8	86,1	13,6	+ API 6704552	+	+	+	+
23	+	83,4	17,8	85,8	13,6	+ API 6704552	+	+	+	+
24	+	83,4	18,1	85,8	14,1	+ API 6704552	+	+	+	+
témoin +	+	83,8	31	86,1	23,7					
témoin -	-	74	37,6	86,5	32,8					
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique			présence ou absence	
identité du second milieu d'isolement choisi : HECKTOEN										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C :4H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers :1H										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher :16H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie = 0UFC/ml										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
Laboratoire n°4						REALPLEX				
date et heure de début d'analyse :15/12/09 à 16H										
Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579					
n°éch.	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	/	46,1	87,2	34,3	-	-	-	-	-
2	-	/	40	86,9	32,6	-	-	-	-	-
3	-	/	/	86,8	32,5	-	-	-	-	-
4	-	/	/	86,1	36	-	-	-	-	-
5	-	/	/	86,6	32,8	-	-	-	-	-
6	-	/	39,6	86,5	32,8	-	-	-	-	-
7	-	/	39,5	86,2	33,7	-	-	-	-	-
8	-	/	/	86,7	34,7	-	-	-	-	-
9	+	85,4	18,9	87,1	16,7	+	+	+	+	+
10	-	/	/	86,8	14,9	-	-	-	-	-
11	+	84,6	18,2	86,8	15,6	+	+	+	+	+
12	+	84,8	36,4	86,7	17	+	+	+	+	+
13	+	84,1	25,3	86,9	16,4	+	+	+	+	+
14	+	84,2	18,7	86,6	15,2	+	+	+	+	+
15	+	84,8	18,6	86,8	15	+	+	+	+	+
16	+	84,5	18	87,2	16	+	+	+	+	+
17	+	85,1	22,2	87,2	15,6	+	+	+	+	+
18	+	84,3	17,6	86,6	15	+	+	+	+	+
19	+	84,9	19,3	86,3	14,7	+	+	+	+	+
20	+	84,6	18,4	86,2	18,7	+	+	+	+	+
21	+	84,6	18,8	86,1	17,4	+	+	+	+	+
22	+	84,2	18,7	86,1	15,4	+	+	+	+	+
23	+	84,3	22,3	86,4	14,8	+	+	+	+	+
24	+	84,4	20,1	86,4	14,9	+	+	+	+	+
témoin +	+									
témoin -	-									
identité du second milieu d'isolement choisi : HECKTOEN										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C :3H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers :30 minutes										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher :16H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie = <10UFC/ml										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°5						ROTORGENE				
date et heure de début d'analyse :le 15/12/2009										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	/	40,23	86,33	24,77	-	-	-	-	absence
2	-	/	36,33	86,33	25,5	-	-	-	-	absence
3	-	83,11	36,45	86,3	25,26	-	-	-	-	absence
4	-	/	48,69	86,39	25,52	-	-	-	-	absence
5	-	/	/	86,39	25,85	-	-	-	-	absence
6	-	/	44,43	86,33	25,85	-	-	-	-	absence
7	-	/	40,23	86,39	25,9	-	-	-	-	absence
8	-	/	33,86	86,44	26,18	-	-	-	-	absence
9	+	83,4	15,3	85,81	9,5	+	+	+	+	présence
10	+	83,34	19,16	85,86	12,53	+	+	+	+	présence
11	+	82,43	17,1	85,86	11,25	+	+	+	+	présence
12	-	/	42,98	86,39	25,93	-	-	-	-	absence
13	+	83,34	15,67	85,81	9,68	+	+	+	+	présence
14	+	83,4	14,48	85,86	9,38	+	+	+	+	présence
15	+	83,34	14,4	85,81	9,36	+	+	+	+	présence
16	+	83,4	14,4	85,86	9,29	+	+	+	+	présence
17	+	83,4	14,58	85,89	9,54	+	+	+	+	présence
18	+	83,49	14,59	85,95	9,58	+	+	+	+	présence
19	+	83,49	14,41	85,95	9,37	+	+	+	+	présence
20	+	83,43	14,59	85,89	9,48	+	+	+	+	présence
21	+	83,43	14,68	85,86	9,72	+	+	+	+	présence
22	+	83,43	14,47	85,81	9,43	+	+	+	+	présence
23	+	83,43	14,52	85,89	10,26	+	+	+	+	présence
24	+	83,43	15,15	85,81	9,76	+	+	+	+	présence
témoin +	+	83,57	27,04	86,47	20,02	Code identique de toutes les galeries API 20 E : 6704552				
témoin -	-	/	33,53	86,44	30,36					
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : Compass Salmo de chez Biokar										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 6 H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers :1h										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie <1 UFC/ml (selon ISO 4833)										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°6						AB7500				
date et heure de début d'analyse : Le 15/12/09 à 16 Heures										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
B1	-	75,4	38,95	87	31,42	-	-	-	-	absence
B2	-	73,6	44,83	87	31,78	-	-	-	-	absence
B3	-	87,3	49,58	87,3	31,17	-	-	-	-	absence
B4	-	74,5	40,54	87,3	33,15	-	-	-	-	absence
B5	-	76,9	40,89	87,3	32,08	-	-	-	-	absence
B6	-	74,8	43,71	87	31,43	-	-	-	-	absence
B7	-	74,8	46,95	86,4	30,09	-	-	-	-	absence
B8	-	74,8	41,93	86,4	30,88	-	-	-	-	absence
B9	+	83,3	17,73	86,1	12,54	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B10	-	74,5	40,27	86,7	30,2	-	-	-	-	absence
B11	+	83,6	17,84	86,4	12,58	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B12	+	83,6	17,74	86,4	12,49	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B13	+	83,6	17,67	86,1	12,24	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B14	+	83,6	18,12	86,1	13,18	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B15	-	82,7	>50	86,4	30,51	-	-	-	-	absence
B16	+	83,3	17,72	85,8	12,62	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B17	+	83,3	17,8	86,1	12,72	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B18	+	83,6	17,93	86,1	12,45	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B19	+	83,6	18	86,1	12,54	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B20	+	83,9	17,76	86,4	12,52	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B21	+	83,6	17,85	86,4	12,48	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B22	+	83,6	17,88	86,1	12,58	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B23	+	83,6	17,93	86,1	12,54	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
B24	+	83,3	17,91	85,8	13,14	+	+	+	(API 10S : 6714)	présence
témoin +	+	83,6	31,02	86,4	24,08					
témoin -	-	75,4	44,74	66,1	>50					
identité du second milieu d'isolement choisi : ASAP										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 6 Heures										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 1 Heure										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 Heures										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobique = <10 UFC/ml										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°7							AB7500			
date et heure de début d'analyse 15/12/09 à 16h										
N° échn	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD /RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	69,9	Undet.	86,7	31,648	-	-	-	-	absence
2		82,9	47,01	86,7	33,27	-	-	-	-	absence
3	-	74,3	36,46	87,1	31,33	-	-	-	-	absence
4	-	74,6	37,3	86,7	33,39	-	-	-	-	absence
5	-	74,6	37,68	87,1	31,69	-	-	-	-	absence
6	-	76,4	41,13	87,1	32,5	-	-	-	-	absence
7	-	72,9	39,37	86,7	31,84	-	-	-	-	absence
8	-	74	46,31	86,7	32,98	-	-	-	-	absence
9	+	82,8	16,87	85,6	13,52	+	+	+	+	présence
10	+	83,5	18,41	85,9	14,78	+	+	+	+	présence
11	+	83,5	17,2	85,9	13,64	+	+	+	+	présence
12	+	83,5	17,85	85,9	14,03	+	+	+	+	présence
13	+	83,5	26,9	83,5	26,9	+	+	+	+	présence
14	+	83,5	17,57	83,5	17,57	+	+	+	+	présence
15	+	83,2	19,79	85,6	13,61	+	+	+	+	présence
16	+	83,2	16,68	85,6	13,47	+	+	+	+	présence
17	+	83,2	19,83	85,9	16	+	+	+	+	présence
18	+	83,2	18,88	85,9	15,22	+	+	+	+	présence
19	+	83,5	18,07	87	35,52	+	+	+	+	présence
20	+	83	20,27	85,8	15,65	+	+	+	+	présence
21	+	84	16,69	87	34,32	+	+	+	+	présence
22	+	83,4	20,17	85,8	15,68	+	+	+	+	présence
23	+	83,5	17,81	85,9	14,19	+	+	+	+	présence
24	+	83,7	20,24	86,2	15,58	+	+	+	+	présence
Témoin +	+	86,6	23,5	86,6	26,01	code API 666502260721				
Témoin -	-	81,8	Undet.	66,2	Undet.					
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : ASAP										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C :2 H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : <30 min										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie <100 UFC/ml (selon ISO 4833)										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n° 8								REALPLEX		
date et heure de début d'analyse :le 15/12/2009 - 18h30										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD /RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	Conclusion
1	-	/	/	87,7	33,55	-	-	-	-	-
2	-	76,2	38,53	87,5	33,44	-	-	-	-	-
3	-	/	>50	87	33	-	-	-	-	-
4	-	83,4	43,9	87,1	34,74	-	-	-	-	-
5	-	75,6	37,54	87	32,75	-	-	-	-	-
6	-	75,7	34,87	86,9	32,86	-	-	-	-	-
7	-	76,1	29,72	87,1	33,14	-	-	-	-	-
8	-	75,5	27,54	87,3	34,18	-	-	-	-	-
9	-	76	36,57	87,5	33,9	-	-	-	-	-
10	+	84,3	19,84	86,6	15,92	+	+	+	+	+
11	+	84	18,61	86,3	14,77	+	+	+	+	+
12	+	84	18,6	86,3	14,57	+	+	+	+	+
13	+	83,8	18,81	86,1	14,75	+	+	+	+	+
14	+	83,8	19,88	86,1	15,85	+	+	+	+	+
15	+	84,1	18,94	86,4	15,01	+	+	+	+	+
16	+	84,5	19,83	86,8	16	+	+	+	+	+
17	+	84,9	19,47	87,5	16,04	+	+	+	+	+
18	+	84,5	18,9	87,1	15,42	+	+	+	+	+
19	+	84,3	18,5	86,8	15,26	+	+	+	+	+
20	+	84,2	18,9	86,7	15,64	+	+	+	+	+
21	+	84,1	18,86	86,6	15,48	+	+	+	+	+
22	+	84,1	18,77	86,7	15,48	+	+	+	+	+
23	+	84,2	18,64	86,9	15,08	+	+	+	+	+
24	+	84,6	19,04	87,3	15,53	+	+	+	+	+
témoin +	+	85,3	29,43	88,1	26,53	Code identique de toutes les galeries API 20 E : 6704552				
témoin -	-	/	/	87,2	36,38					
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : SMS										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 8 H										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 30 min										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 H										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie <1UFC/ml (selon ISO 4833)										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n°9						AB7500				
date et heure de début d'analyse : 15/12/09 à 15h20										
n°éch.	Test PCR HQS salmonella					Résultats de la méthode ISO 6579				Conclusion
	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD /RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/ MKTTn	
1	Absence	82,4	46	85,9		-	-	-	-	Absence
2	Absence	89,1	40	86,3		-	-	-	-	Absence
3	Absence	82,7	48	86,6		-	-	-	-	Absence
4	Absence	74,9	37	86,6		-	-	-	-	Absence
5	Absence	81,5	34	86,6		-	-	-	-	Absence
6	Absence	75,8	37	86,6		-	-	-	-	Absence
7	Absence	81,1	49	86,3		-	-	-	-	Absence
8	Absence	82,4	34	85,9		-	-	-	-	Absence
9	présence	83,4	17	85,6		+	+	+	+	Présence
10	présence	83,4	17	85,9		+	+	+	+	Présence
11	présence	83,7	17	85,9		+	+	+	+	Présence
12	présence	83,7	17	86,3		+	+	+	+	Présence
13	présence	83,7	17	86,3		+	+	+	+	Présence
14	présence	83,7	35	86,6		+	+	+	+	Présence
15	présence	83,4	17	85,9		+	+	+	+	Présence
16	présence	83,4	17	85,6		+	+	+	+	Présence
17	présence	83,4	17	85,6		+	+	+	+	Présence
18	présence	83,4	17	85,9		+	+	+	+	Présence
19	présence	83,7	17	86,3		+	+	+	+	Présence
20	présence	83,7	17	86,3		+	+	+	+	Présence
21	présence	83,7	17	86,3		+	+	+	+	Présence
22	présence	83,7	17	85,9		+	+	+	+	Présence
23	présence	83,4	17	85,9		+	+	+	+	Présence
24	présence	83,4	17	86,6		+	+	+	+	Présence
témoin +	Conforme	83,7	30	86,6						
témoin -	Conforme	82,7	48	85,3						
						+ si présence de colonies caractéristiques et code de la galerie API ou - si absence de colonie caractéristique				présence ou absence
identité du second milieu d'isolement choisi : Rapid' Salmonella										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 4 heures										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 30 minutes										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 heures										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie = < 10 UFC/ml										

FICHE DES RESULTATS PCR ET MICROBIOLOGIQUES										
laboratoire n° 10						AB7500				
date et heure de début d'analyse : 15/12/09 à 17 h										
Test PCR HQS salmonella						Résultats de la méthode ISO 6579				
n°éch.	Résultat (+/-)	Tm	Ct	Tmi	Cti	XLD / RVS	second milieu/ RVS	XLD/ MKTTn	Second milieu/M KTTn	Conclusion
1	-	80,4	undet	86,6	2,98	Absence				absence
2		83,8	undet	86,2	2,97	Absence				absence
3	-	74,6	undet	86,6	2,97	Absence				absence
4	-	74	undet	86,6	2,98	Absence				absence
5	-	74,6	undet	86,2	2,99	Absence				absence
6	-	73,7	undet	86,2	2,97	Absence				absence
7	-	74	undet	86,6	2,96	Absence				absence
8	1	83,5	2,99	86,2	2,97	Absence				absence
9	+	83,8	2,99	86,2	2,97	Présence				présence : 66650040701
10	+	83,8	undet	86,2	2,96	Présence				présence : 66650040701
11	+	83,8	3	86,2	2,98	Présence				présence : 66650040701
12	+	83,5	3	86,2	15,94	Absence				présence : 66650040701
13	+	83,5	3	85,9	2,98	Présence				présence : 66650040701
14	+	83,5	undet	85,9	14,63	Présence				présence : 66650040701
15	+	83,5	2,99	85,9	2,97	Présence				présence : 66650040701
16	+	83,8	2,99	85,9	2,98	Présence				présence : 66650040701
17	+	83,8	2,99	86,2	2,97	Présence				présence : 66650040701
18	+	83,8	2,99	86,2	2,96	Présence				présence : 66650040701
19	+	83,8	2,98	86,2	2,97	Présence				présence : 66650040701
20	+	83,5	2,99	85,9	undet	Présence				présence : 66650040701
21	+	83,5	undet	85,9	2,97	Présence				présence : 66650040701
22	+	83,2	undet	85,5	2,99	Présence				présence : 66650040701
23	+	83,2	3	85,5	2,98	Présence				présence : 66650040701
24	+	83,5	undet	85,9	2,98	Présence				présence : 66650040701
témoin +	+	83,5	undet	86,6	3					
témoin -	-	74,9	2,95	86,2	2,97					
identité du second milieu d'isolement choisi : Hektoen										
durée de préchauffage du bouillon EPT à 37°C : 4 h 30										
Temps écoulé entre la sortie de l'étuve du bouillon préchauffé et la mise en incubation des sacs stomachers : 1 h										
durée d'incubation à 37°C des sacs stomacher : 16 h 30										
Résultat du dénombrement de la flore totale mésophile aérobie = < 1000 UFC/ml (ne)										

Annexe n°9

Résultats positifs obtenus avec la méthode de référence :

Laboratoire	Contamination L0	Contamination L1	Contamination L2
1	0/8	8/8	8/8
2	0/8	6/8	8/8
3	0/8	6/8	8/8
4	0/8	7/8	8/8
5	0/8	7/8	8/8
6	0/8	6/8	8/8
7	0/8	8/8	8/8
8	0/8	8/8	8/8
9	0/8	8/8	8/8
10	0/8	7/8	8/8
TOTAL	Faux Positif = 0	Vrais Positifs = 71	Vrais positifs = 80
	FP = 0	TP(L1)= 71	TP (L2) = 80

Résultats positifs obtenus avec la méthode alternative :

Laboratoire	Contamination L0	Contamination L1	Contamination L2
1	0/8	8/8	8/8
2	0/8	5/8	8/8
3	0/8	6/8	8/8
4	0/8	7/8	8/8
5	0/8	7/8	8/8
6	0/8	6/8	8/8
7	0/8	8/8	8/8
8	0/8	8/8	8/8
9	0/8	8/8	8/8
10	0/8	7/8	8/8
TOTAL	Faux Positif = 0	Vrais Positifs = 70	Vrais positifs = 80
	FP = 0	TP(L1)= 70	TP (L2) = 80

Un seul résultat est discordant, il s'agit de l'échantillon 13 du laboratoire n°2.

Annexe n°10

Récapitulatif des résultats d'exactitude relative et LCL.

N	AC	LCL
L1+L2+L0	99.58 %	98.89 %
L0	100 %	
L1	98.75 %	96.70 %
L2	100 %	
L1+L2	99.37%	98.34 %

Annexe n°11

Calcul du degré d'accord pour la méthode de référence pour le niveau L1

laboratoire	Nb de POS	Probabilité de POS	Probabilité de Paires de POS	Probabilité de NEG	Probabilité de paires de NEG	Probabilité de paires de résultats identiques
1	8	1	1	0	0	1
2	6	0.75	0.5625	0.25	0.0625	0.625
3	6	0.75	0.5625	0.25	0.0625	0.625
4	7	0.875	0.7656	0.125	0.015625	0.78125
5	7	0.875	0.7656	0.125	0.01625	0.78125
6	6	0.75	0.5625	0.25	0.0625	0.625
7	8	1	1	0	0	1
8	8	1	1	0	0	1
9	8	1	1	0	0	1
10	7	0.875	0.7656	0.125	0.015625	0.78125
					moyenne	82.19

Calcul du degré d'accord pour la méthode alternative pour le niveau L1

laboratoire	Nb de POS	Probabilité de POS	Probabilité de Paires de POS	Probabilité de NEG	Probabilité de paires de NEG	Probabilité de paires de résultats identiques
1	8	1	1	0	0	1
2	5	0.625	0.3906	0.375	0.1406	0.531
3	6	0.75	0.5625	0.25	0.0625	0.625
4	7	0.875	0.7656	0.125	0.015625	0.78125
5	7	0.875	0.7656	0.125	0.01625	0.78125
6	6	0.75	0.5625	0.25	0.0625	0.625
7	8	1	1	0	0	1
8	8	1	1	0	0	1
9	8	1	1	0	0	1
10	7	0.875	0.7656	0.125	0.015625	0.78125
					moyenne	81.25

Annexe n°12

Calcul de concordance pour la méthode de référence :

Laboratoire	positifs	paires de positifs	négatifs	paires de négatifs	paires avec même résultats	paires totales	
1	8	504	0	0	504	576	
2	6	390	2	14	404	576	
3	6	390	2	14	404	576	
4	7	448	1	8	456	576	
5	7	448	1	8	456	576	
6	6	390	2	14	404	576	
7	8	504	0	0	504	576	
8	8	504	0	0	504	576	
9	8	504	0	0	504	576	
10	7	448	1	8	456	576	concordance
80	71		9		4596	5760	0,7979

Calcul de concordance pour la méthode alternative :

laboratoire	positifs	paires de positifs	négatifs	paires de négatifs	paires avec même résultats	paires totales	
1	8	496	0	0	496	576	
2	5	325	3	21	346	576	
3	6	384	2	16	400	576	
4	7	441	1	9	450	576	
5	7	441	1	9	450	576	
6	6	384	2	16	400	576	
7	8	496	0	0	496	576	
8	8	496	0	0	496	576	
9	8	496	0	0	496	576	
10	7	441	1	9	450	576	concordance
80	70		10		4480	5760	0,7778