



CONFIDENTIEL

Certification *AFNOR validation* de la
méthode *RAPID'E.coli 2* pour le
dénombrement des coliformes
selon le référentiel EN ISO 16140

Rapport de synthèse

<u>Date de validation initiale :</u>	02/12/2004
<u>Date de reconduction :</u>	28/11/2008
<u>Numéro d'attestation :</u>	BRD 07/8-12/04

Etude réalisée par :

L'INSTITUT PASTEUR DE LILLE
S.E.R.M.H.A.
1 rue du Professeur Calmette
BP.245
59019 LILLE CEDEX
FRANCE

pour :

BIO-RAD
3, Bd Raymond Poincaré
92 430 MARNES-LA-COQUETTE

SOMMAIRE

1	INTRODUCTION	2
1.1	REFERENTIEL DE VALIDATION	2
1.2	PROTOCOLE ET PRINCIPE DE LA METHODE ALTERNATIVE	2
1.2.1	<i>Principe de la méthode</i>	2
1.2.2	<i>Protocole de la méthode</i>	2
1.3	DOMAINE D'APPLICATION.....	2
1.4	METHODE DE REFERENCE A LAQUELLE LA METHODE ALTERNATIVE A ETE COMPAREE	2
1.5	HISTORIQUE DE LA CERTIFICATION SOUS MARQUE AFNOR VALIDATION	3
2	ETUDE COMPARATIVE DES METHODES	3
2.1	EXACTITUDE RELATIVE.....	3
2.1.1	<i>Nature des essais</i>	3
2.1.2	<i>Contaminations artificielles</i>	4
2.1.3	<i>Résultats bruts</i>	4
2.1.4	<i>Interprétation statistique</i>	4
2.1.5	<i>Conclusion</i>	5
2.2	LINEARITE.....	6
2.2.1	<i>Nature des essais</i>	6
2.2.2	<i>Résultats bruts</i>	6
2.2.3	<i>Interprétation statistique</i>	7
2.2.4	<i>Conclusion</i>	8
2.3	SPECIFICITE / SELECTIVITE (INCLUSIVITE / EXCLUSIVITE).....	8
3	ETUDE INTERLABORATOIRE	8
3.1	ORGANISATION DE L'ETUDE	8
3.2	CONTROLE DES PARAMETRES EXPERIMENTAUX	9
3.2.1	<i>Avant ensemencement</i>	9
3.2.2	<i>Taux de contamination obtenus</i>	9
3.3	TEMPERATURES	9
3.3.1	<i>A réception</i>	9
3.3.2	<i>Conclusion</i>	9
3.4	RESULTATS	10
3.4.1	<i>Laboratoire expert</i>	10
3.4.2	<i>Laboratoires collaborateurs</i>	10
3.4.3	<i>Conclusion</i>	10
3.5	CALCULS	11
3.5.1	<i>Calcul du biais D</i>	11
3.5.2	<i>Répétabilité et reproductibilité</i>	11
4	PRATICABILITE	12
5	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	13
6	CONCLUSION	13

1 Introduction

1.1 Référentiel de validation

L'étude de reconduction de validation de la méthode RAPID'*E.coli* 2 pour le dénombrement des coliformes a été réalisée en conformité avec le référentiel NF EN ISO 16140 par rapport à la méthode de référence ISO 4832.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

1.2.1 Principe de la méthode

La méthode utilise un milieu chromogénique de dénombrement.

Le principe du milieu repose sur la mise en évidence simultanée de deux activités enzymatiques : la β -D-Glucuronidase (GLUC) et la β -D-Galactosidase (GAL).

Le milieu contient deux substrats chromogéniques :

- un substrat spécifique de la GAL qui entraîne la coloration bleue des colonies positives pour cette enzyme,
- un substrat spécifique de la GLUC qui entraîne la coloration rose des colonies positives pour cette enzyme.

Les *E.coli* (GAL+/GLUC+) forment des colonies violettes à roses.

Les coliformes autres que *E.coli* (GAL+/GLUC-) forment des colonies bleues.

L'ensemble des coliformes est représenté par des colonies violettes à roses et bleues.

1.2.2 Protocole de la méthode

A partir d'une suspension-mère diluée au dixième ou directement à partir de l'échantillon s'il est liquide, des volumes de 1ml sontensemencés dans des boîtes de Petri. Différentes dilutions décimales peuvent être également réalisées etensemencées. Le milieu RAPID'*E.coli* 2 est utilisé en simple couche, afin d'améliorer la lisibilité et la praticabilité.

Les géloses RAPID'*E.coli* 2 sont incubées à 37°C pendant 21 heures +/- 3 heures.

Après incubation, les colonies roses à violettes et bleues sont dénombrées comme étant des coliformes.

Le schéma analytique est présenté en annexe A.

1.3 Domaine d'application

Le domaine d'application concerne tous les produits d'alimentation humaine.

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

La méthode de référence utilisée lors de l'étude initiale était la suivante :

- norme NF ISO 4832 (1991) "Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes: Technique de comptage des colonies". Elle utilise le milieu VRBL,ensemencé en profondeur, utilisé en double couche et incubé à 30°C ou 37°C.

Dans le cadre de l'étude initiale de certification, les deux températures d'incubation, 30°C et 37°C, ont été étudiées, et deux boîtes ont étéensemencées par dilution décimale.

Cette norme a été révisée en Juillet 2006.

Par rapport à la version de 1991, les modifications sont les suivantes:

- la méthode alternative d'incubation à 35 °C a été supprimée
- un test de confirmation sur bouillon lactosé bilié au vert brillant a été introduit pour les colonies atypiques (par exemple celles de taille plus petite) et pour toutes les colonies dérivées des produits laitiers contenant des sucres autres que le lactose. (la conversion des sucres autres que le lactose peut entraîner la formation de colonies, ayant une apparence similaire aux colonies typiques de coliformes).

Il est indiqué dans l'avant-propos de la norme NF ISO 4832 :2006 que :

« Étant donné la nature des modifications à l'édition précédente de la présente Norme internationale, il est considéré que cette révision n'a pas de conséquences sur la validation des méthodes alternatives basées sur l'ISO 4832 :1991 ».

Le schéma analytique est présenté en annexe A.

1.5 Historique de la certification sous marque AFNOR Validation

La méthode RAPID'E.coli pour le dénombrement des coliformes est validée sous le numéro d'attestation BRD 07/8–07/93 depuis décembre 2004.

Les essais de 2004 avaient été réalisés conformément au référentiel NF EN ISO 16140.

La révision de la méthode de référence NF ISO 4832 n'ayant pas de conséquence sur la validité des résultats d'essais obtenus lors de l'étude initiale de certification, et les principe et protocole de la méthode alternative RAPID'E.coli 2 pour le dénombrement des coliformes n'ayant pas été modifiés depuis 2004, aucun complément d'essai n'a été réalisé pour la reconduction de certification AFNOR Validation de la méthode RAPID'E.coli 2 pour le dénombrement des coliformes.

L'ensemble des résultats obtenus en 2004 est repris dans le présent rapport.

2 Etude comparative des méthodes

Les critères suivant ont été déterminés :

- linéarité
- exactitude relative
- inclusivité et exclusivité
- praticabilité

2.1 Exactitude relative

L'exactitude relative définie dans la norme NF EN ISO 16140 est l'écart de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée.

2.1.1 Nature des essais

Les produits ont été analysés en double par les 2 méthodes :

- la méthode de référence NF ISO 4832, utilisant la gélose VRBL,
- la méthode alternative REC2 (37°C).

Au total, 73 produits ont été analysés, de manière à obtenir au moins 50 résultats exploitables.

Les catégories alimentaires et les types d'échantillons étaient les suivants :

Catégories	Types	Echantillons analysés	Echantillons exploités
Produits carnés	viandes et abats	8	5
	viandes de volaille	8	1
	produits assaisonnés (saucisses)	5	4
	TOTAL	21	10
Produits laitiers	lait cru	1	1
	glaces	2	0
	fromages de vache	4	3
	fromages de brebis	2	2
	fromages de chèvre	5	4
	TOTAL	14	10
Produits végétaux	crus	4	3
	surgelés	2	2
	assaisonnés	6	4
	fruits	1	1
	TOTAL	13	10
Produits de la pêche	poissons crus	5	2
	poissons fumés	2	2
	crustacés	6	6
	TOTAL	13	10
Pâtisseries	crèmes	6	6
	chantilly	3	1
	fruits	3	3
	TOTAL	12	10
TOTAL	73	50	

La plupart des échantillons dont les résultats n'ont pu être exploités n'étaient pas contaminés en coliformes.

2.1.2 Contaminations artificielles

Des contaminations artificielles avaient été réalisées sur 7 échantillons, en utilisant des suspensions contaminantes stressées dont le traitement et l'efficacité du stress avaient été déterminés.

2.1.3 Résultats bruts

Chaque échantillon a été analysé en double par la méthode alternative et par la méthode de référence. Les résultats obtenus pour chaque méthode figurent en annexe B.

Selon la norme NF EN ISO 16140, un graphique bidimensionnel avec les valeurs de chaque échantillon a été tracé. A priori, l'axe vertical (y) est utilisé pour la méthode alternative et l'axe horizontal (x) est utilisé pour la méthode de référence. Les données ont ensuite été testées par un programme de régression linéaire, afin de déterminer la valeur de l'intercept (a) et la valeur de la pente (b).

La relation d'exactitude relative est évaluée avec le modèle : $y = bx + a$.

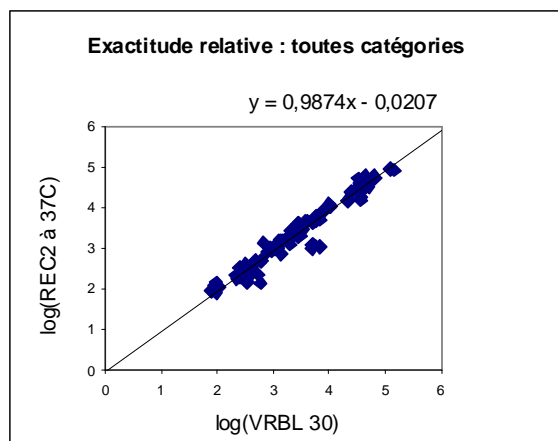
Pour chacune des méthodes, les écarts-type de répétabilité ont calculés ($sr(x)$ et $Rob.sr(x)$ & $sr(y)$ et $Rob.sr(y)$).

En fonction du rapport de ces écarts-type $R = sr(y) / sr(x)$ et $Rob.R = Rob.sr(y) / Rob.sr(x)$, la régression linéaire à utiliser pour l'interprétation est définie dans la norme NF EN ISO 16140.

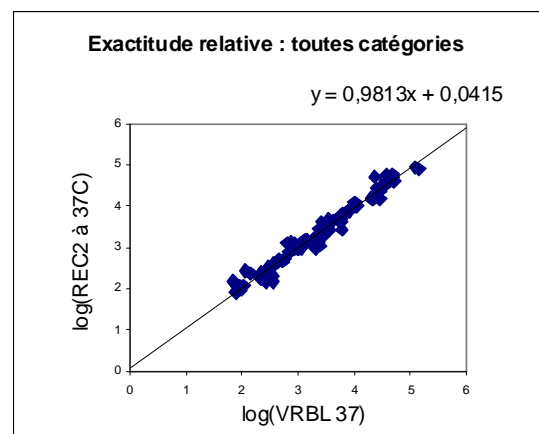
Les graphiques suivants représentent les valeurs brutes obtenues pour les échantillons analysés, toute catégories confondues.

La droite représentée est la première bissectrice ($y = x$).

Graphique 1 : méthode de référence réalisée à 30°C



Graphique 2 : méthode de référence réalisée à 37°C



2.1.4 Interprétation statistique

Afin de vérifier si l'exactitude relative est satisfaisante, les deux hypothèses suivantes doivent être vérifiées au risque $\alpha = 5\%$:

- **Ordonnée à l'origine (ou intercept) {a = 0}**

La méthode alternative présente un biais systématique par rapport à la méthode de référence :

- si la valeur $t = a / S_a$ avec (q-2) degrés de liberté est supérieure à la valeur critique $T_{critique}$, obtenue dans la table de Student, ou
- si la probabilité $p\{a = 0\} < \alpha$ ($=0,05$), $p\{a = 0\}$ étant définie par la loi de Student

- **Pente {b = 1}**

Si la méthode alternative ne donne pas les mêmes valeurs que la méthode de référence :

- la valeur $t = (b-1) / S_b$ avec (q-2) degrés de liberté est supérieure à la valeur critique $T_{critique}$, obtenue dans la table de Student, ou
- si la probabilité $p\{b = 1\} < \alpha$ ($=0,05$), $p\{b = 1\}$ étant définie par la loi de Student

Les données ayant été statistiquement analysées selon le référentiel NF EN ISO 16140, les résultats obtenus : régressions utilisées, valeurs de a (ordonnée à l'origine) et de b (pentes) obtenues pour toutes catégories confondues dans les tableaux suivants :

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 30°C

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	a	t(a)	p(t ;a=0)	b	t(b)	p(t ;b=1)	Conclusion
Tous produits	1,29	GMFR	-0,021	0,188	0,852	0,987	0,393	0,696	{a=0} acceptée {b=1} acceptée

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 37°C

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	a	t(a)	p(t ;a=0)	b	t(b)	p(t ;b=1)	Conclusion
Tous produits	1,69	GMFR	0,041	0,561	0,578	0,981	0,865	0,391	{a=0} acceptée {b=1} acceptée

L'équation de la droite de régression entre la méthode alternative et la méthode de référence, toutes catégories confondues, est la suivante :

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 30°C

$y = -0,210 + 0,987 x \quad (r^2 = 0,951)$ avec : $y = \log(N \text{ méthode alternative})$ $x = \log(N \text{ méthode de référence})$
--

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 37°C

$y = 0,041 + 0,981 x \quad (r^2 = 0,977)$ avec : $y = \log(N \text{ méthode alternative})$ $x = \log(N \text{ méthode de référence})$

Les limites de répétabilité (en log) obtenues pour la méthode alternative et la méthode de référence sont les suivantes :

Méthode alternative	Méthode de référence à 30°C	Méthode de référence à 37°C
r = 0,18	r = 0,14	r = 0,11

Le biais entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) est :

- par rapport à la méthode de référence à 30°C : D = -0,010 log
- par rapport à la méthode de référence à 37°C : D = -0,007 log

2.1.5 Conclusion

Pour tous produits confondues, les deux hypothèses {a=0} et {b=1} sont acceptées. Il n'y a pas de biais systématique entre les méthodes.

Les limites de répétabilité calculées pour toutes catégories confondues sont tout à fait satisfaisantes : 0,18 log pour la méthode de référence NF ISO 4832 et 0,11 – 0,14 log pour la méthode alternative.

Le biais calculé entre la méthode alternative et la méthode de référence est de l'ordre de – 0,01 log UFC/g.

2.2 Linéarité

La linéarité définie dans la norme NF EN ISO 16140 est l'aptitude de la méthode à fournir des résultats proportionnels à la quantité de microorganismes présents dans l'échantillon, c'est-à-dire qu'à une augmentation de l'analyte correspond une augmentation linéaire ou proportionnelle des résultats.

2.2.1 Nature des essais

Cinq produits ont été contaminés, à cinq niveaux de contamination, par cinq souches d'origine coliformes d'origines différentes, en fonction du produit contaminé. Chaque échantillon par niveau a été dupliqué, en réalisant deux séries de dilutions, et analysé par la méthode alternative et par la méthode de référence.

Produit	Souche	Origine
viande de bœuf hachée	<i>Enterobacter agglomerans</i>	jambon
lait cru	<i>Enterobacter cloacae</i>	poudre de lait
filet de poisson	<i>Enterobacter amnigenus</i>	brochette de poisson
chou rouge	<i>Citrobacter freundii</i>	céleri
crème pâtissière	<i>Enterobacter cloacae</i>	lait cru

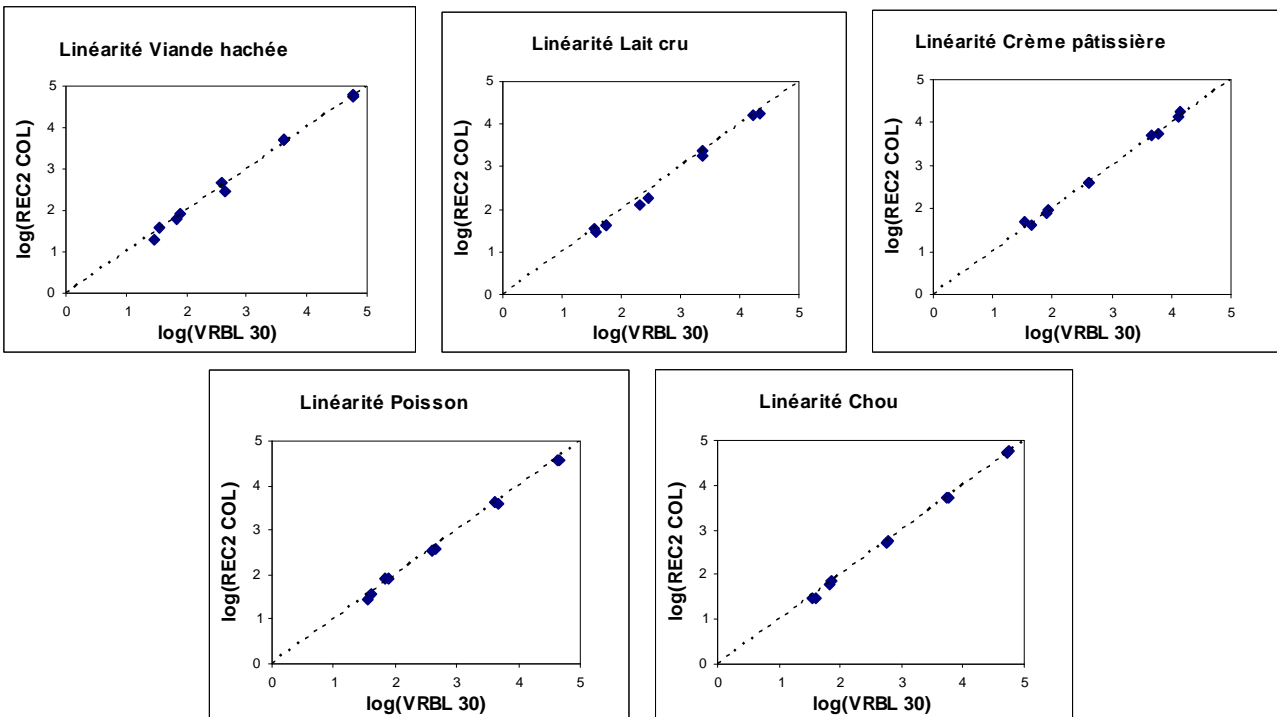
2.2.2 Résultats bruts

Comme pour l'exactitude relative, selon la norme NF EN ISO 16140, un graphique bidimensionnel avec les valeurs de chaque échantillon a été tracé pour chaque produit contaminé. L'axe vertical (y) est utilisé pour la méthode alternative et l'axe horizontal (x) est utilisé pour la méthode de référence.

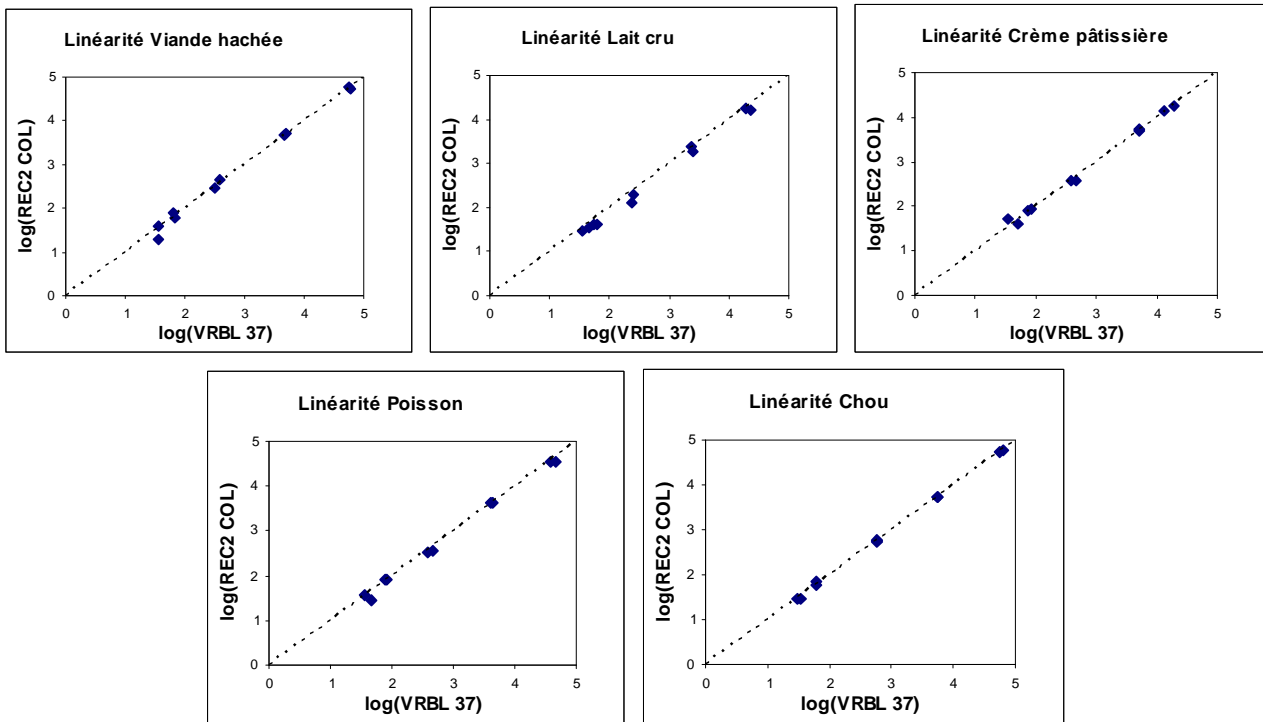
La droite représentée sur les graphiques suivants est la première bissectrice ($y = x$).

Les graphiques bidimensionnels obtenus sont présentés ci-dessous :

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 30°C



- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 37°C



2.2.3 Interprétation statistique

La non linéarité est déterminée par l'évaluation du défaut d'ajustement (lack of fit).
Il s'agit de calculer la valeur Rob.F :

$$\text{Rob.F} = \frac{(N-2) (s^2_{y:x} / \text{Rob.sr}(y)^2) - q (n-1)}{q-2}$$

avec q, le nombre de niveaux (q = 5)
n, le nombre de réplicats pour chaque niveaux (n = 2)
N, le nombre d'échantillons (N = nq)

La relation n'est pas linéaire

- si [Rob.F > Fcrit (vnum, vden)]
- ou
- si p(F, vnum, vden).< α (=0,05)

Les droites des régressions obtenues, ainsi que les valeurs de Rob.F et les conclusions associées sont reprises dans les tableaux suivants :

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 30°C

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	Fcritique	Rob.F	p (Rob.F) %	Conclusion
viande hachée	3,228	OLS	5,41	0,561	66 %	linéaire
lait cru	3,382	OLS	5,41	2,722	15 %	linéaire
crème pâtissière	1,807	GMFR	5,41	1,592	30 %	linéaire
poisson	0,337	OLS2	5,41	2,294	20 %	linéaire
chou	1,098	GMFR	5,41	2,482	18 %	linéaire

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 37°C

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	Fcritique	Rob.F	p (Rob.F) %	Conclusion
viande hachée	3,932	OLS	5,41	0,857	52 %	linéaire
lait cru	1,067	GMFR	5,41	1,066	44 %	linéaire
crème pâtissière	0,578	GMFR	5,41	0,000	100 %	linéaire
poisson	0,309	OLS2	5,41	5,491	5 %	linéaire
chou	2,046	OLS	5,41	2,500	17 %	linéaire

Les équations des droites de régression et les coefficients de corrélation obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 30°C

viande hachée	$\log(\text{Ref}) = -0,076 + 1,020 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 0,994$
lait cru	$\log(\text{Ref}) = -0,151 + 1,022 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 0,995$
crème pâtissière	$\log(\text{Ref}) = 0,017 + 1,000 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 0,999$
poisson	$\log(\text{Alt}) = -0,009 + 1,012 \log(\text{Ref})$	$R^2 = 0,998$
chou	$\log(\text{Ref}) = 0,089 + 1,019 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 1,000$

- en considérant la méthode de référence avec une température d'incubation de 37°C

viande hachée	$\log(\text{Ref}) = -0,052 + 1,012 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 0,994$
lait cru	$\log(\text{Ref}) = 0,171 + 1,120 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 0,998$
crème pâtissière	$\log(\text{Ref}) = 0,040 + 0,986 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 1,000$
poisson	$\log(\text{Alt}) = 0,059 + 0,993 \log(\text{Ref})$	$R^2 = 0,997$
chou	$\log(\text{Ref}) = 0,010 + 0,991 \log(\text{Alt})$	$R^2 = 1,000$

2.2.4 Conclusion

Pour toutes les matrices, les tests statistiques concluent à la linéarité de la relation entre la méthode de référence et la méthode alternative au risque $\alpha = 5\%$.

2.3 Spécificité / Sélectivité (Inclusivité / Exclusivité)

L'objectif de cette étude est de s'assurer que les coliformes sont détectés, et qu'il n'existe pas de réactions croisées avec d'autres souches que les coliformes.

69 souches positives et 20 souches négatives ont été testées, en double, par la méthode alternative. Les résultats figurent en annexe C.

Toutes les souches de coliformes ont cultivé sur le milieu et ont donné des colonies caractéristiques, sauf quelques souches d'*Hafnia alvei*. Les souches donnant des colonies blanches sont en fait ONPG négative, ce qui explique leur aspect non caractéristique.

Ces souches ont été testées en parallèle avec la méthode de référence, sur milieu VRBL incubé à 30°C et à 37°C. Parmi les deux souches ONPG négative, une donne des colonies caractéristiques sur VRBL et la seconde n'est pas observable.

Toutes les souches négatives, lorsqu'elles se sont développées, ont donné un aspect non caractéristique, sauf *Shigella sonnei* et deux souches de *Salmonella arizonae* (Lactose +).

Ces trois souches ont été testées en parallèle avec la méthode de référence, sur milieu VRBL incubé à 30°C et à 37°C et ont donné des colonies caractéristiques.

3 Etude interlaboratoire

3.1 Organisation de l'étude

- Nombre de laboratoires participants

16 laboratoires étaient destinataires des échantillons.

- Echantillons

La matrice « lait pasteurisé » a été contaminée par deux souches de coliformes différentes :

- une souche d'*Escherichia coli* β -glucuronidase positive (EC 27) isolée à partir d'une pâtisserie,
- une souche d'*Enterobacter cloacae* (EN 76) isolée à partir d'une poudre de lait.

- Nombre d'échantillons

Huit échantillons par laboratoire ont été préparés, avec deux flacons par niveau de contamination.

- Analyses

Les laboratoires participants et le laboratoire expert ont réalisé les analyses par la méthode de référence, avec une incubation du milieu VRBL à 30°C et deux boîtes ens emencées par dilution décimale, et par la méthode alternative.

Les analyses ont été réalisées deux jours après envoi des échantillons.

3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

3.2.1 Avantensemencement

Le lait pasteurisé utilisé a été analysé (5 prises d'essai), selon la méthode de référence NF ISO 4832, avant les contaminations, pour nous assurer de l'absence de coliformes. Aucune des prises d'essai de 25 ml ne contenait de coliformes.

La flore naturelle présente dans la matrice variait entre <1 UFC/ml et $9,2 \cdot 10^2$ UFC/ml.

3.2.2 Taux de contamination obtenus

Les taux de contaminations obtenus dans la matrice, avant envoi, figurent dans le tableau ci-dessous :

Taux visé (coliformes) (UFC / ml)	Taux obtenu pour <i>Enterobacter cloacae</i> (UFC / ml)	Taux obtenu pour <i>E.coli</i> (UFC / ml)	Taux obtenu pour les coliformes (UFC / ml)
100	40	47	87
1000	485	455	940
10000	4700	5750	10450

3.3 Températures

3.3.1 A réception

Les températures obtenues sont reprises dans le tableau ci-dessous :

Laboratoire	Température à réception	Commentaires
A	/	
B	5.0°C	Thermobouton : 3.8°C
C	3.3°C	Thermobouton non reçu
D	/	
E	-0.3°C	Aucun échantillon congelé Thermobouton : 0.5°C
F	6.8°C	Thermobouton : 2.5°C
G	4.1°C	Thermobouton : 4.5°C
H	7.1°C	Thermobouton : 4.9°C
I	/	
J	/	
K	5.4°C	Thermobouton non reçu
L	8.5°C	Thermobouton : 3.2°C
M	5.0°C	Thermobouton non reçu
N	/	Thermobouton : 4.5°C
O	Non transmise	Thermobouton : 3.2°C
P	7.0°C	Thermobouton : 4.2°C

3.3.2 Conclusion

Les températures relevées par les laboratoires correspondent globalement aux températures enregistrées par les thermoboutons, sauf pour les laboratoires H et L.

Après analyse des courbes, il s'avère que la température à l'arrivée au laboratoire est plus basse que celle relevée. Les températures indiquées ont vraisemblablement été prises quelque temps après l'ouverture du colis.

Parmi les 11 laboratoires ayant réalisé les essais, nous n'avons pas réceptionné les thermoboutons de trois laboratoires (C, K et M). Au vu de leur température à réception, nous pouvons considérer que leurs essais sont valables.

3.4 Résultats

3.4.1 Laboratoire expert

	Méthode de référence NF ISO 4832		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
Niveau 0	<1	<1	<1	<1
Niveau 1	88	74	71	66
Niveau 2	750	791	691	573
Niveau 3	7727	9955	5636	5545

Les résultats obtenus par la méthode NF ISO 4832 et par la méthode alternative sont concordants.

3.4.2 Laboratoires collaborateurs

Les résultats des 10 laboratoires ayant réalisé les analyses conformément aux instructions sont repris dans les tableaux suivants, selon les exigences de la norme NF EN ISO 16140 : 2003.

a) Niveau 1 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
B	84	98	72	95
C	101	89	102	116
E	89	85	98	99
F	86	67	90	107
H	69	74	87	84
K	81	84	82	97
L	68	58	62	120
M	64	51	74	80
O	46	57	66	90
P	93	78	92	92

b) Niveau 2 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
B	818	891	936	927
C	1095	1100	1245	1209
E	1018	1009	1227	1173
F	1009	827	873	1027
H	991	827	927	1055
K	791	936	1091	982
L	627	573	718	845
M	905	695	827	727
O	659	618	736	836
P	977	1245	973	864

c) Niveau 3 (résultats en UFC/ml)

Laboratoire	Méthode de référence		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
B	10091	8318	9364	10636
C	13409	14182	15909	12727
E	10636	11864	12273	10818
F	9227	8273	8091	8909
H	9500	9273	10273	8455
K	8591	11273	12455	11909
L	8136	5636	9364	7818
M	6818	6909	11273	9636
O	5636	8500	8727	11182
P	10182	13364	10364	12091

3.4.3 Conclusion

Parmi les 11 laboratoires ayant réalisé les essais, le laboratoire G a analysé les échantillons 48 heures après réception, soit 72 heures après contamination des flacons de lait pasteurisé. Ces résultats n'ont pas été exploités. Les dénombrements obtenus pour tous les laboratoires sont du même ordre que ceux du laboratoire expert.

Au final, l'interprétation a été réalisée avec les résultats de 10 laboratoires.

3.5 Calculs

L'exploitation des résultats a été réalisée selon la norme NF EN ISO 16140 : 2003, par niveau de contamination. Les résultats ont préalablement été convertis en log.

3.5.1 Calcul du biais D

Pour chaque niveau et par laboratoire, les différences de résultats (d_i) obtenus entre la méthode alternative et la méthode de référence sont calculées, ce qui permet de déterminer le **biais D** ($=MED\{d_i\}$), ainsi que l'**écart-type robuste** $s\{d_i\}$ ($=k_1 S_n$). Afin de vérifier si l'exactitude relative est satisfaisante, l'**hypothèse {D = 0}** est testée pour chaque niveau, en calculant la statistique :

$$t(d) = MED\{d_i\} \sqrt{n} / s\{d_i\} \quad \text{pour } n-1 \text{ degrés de liberté (n étant le nombre de laboratoires) au risque } \alpha = 5\%$$

Le biais entre les deux méthodes est significatif si la valeur $t(d)$ est supérieure à la valeur critique, $T_{critique}$, obtenue dans la table de Student, ce qui signifie également que la méthode alternative manque d'exactitude par rapport à la méthode de référence pour le niveau testé.

Les valeurs du biais (alternative – référence), de l'écart-type robuste des différences et de la statistique $t(d)$ sont reprises dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau 1 : Biais D, Ecart-type des différences $s\{d_i\}$ et statistique $t(d)$
(calculs réalisés en 2004 selon le référentiel NF EN ISO 16140)

	Biais D (log)	$s\{d_i\}$	$t(d)$	$T_{critique}$	Conclusion
Niveau 1	0,069	0,085	2,544	2,262	{D=0} rejetée
Niveau 2	0,043	0,056	2,458	2,262	{D=0} rejetée
Niveau 3	0,025	0,066	1,223	2,262	{D=0} acceptée

Conclusion

Pour le niveau 3, l'hypothèse, selon laquelle le biais entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) est nul, est acceptée au risque $\alpha = 5\%$.

Pour les deux niveaux inférieurs, 1 et 2, cette hypothèse est rejetée au risque $\alpha = 5\%$, ce qui signifie que la méthode alternative manque d'exactitude par rapport à la méthode de référence. Si l'on considère la valeur critique de T au risque $\alpha = 2\%$ ($T_{critique} = 2,821$), l'hypothèse est alors acceptée.

Le biais était cependant inférieur à 0,1 log entre les deux méthodes, ce qui reste satisfaisant.

3.5.2 Répétabilité et reproductibilité

3.5.2.1 Limite de répétabilité

Pour chaque méthode et chaque niveau a été calculée la **limite de répétabilité** : $r = 2,8 S_r$, avec S_r : écart-type de répétabilité

Tableau 2 : Limites de répétabilité r (log UFC/ml)

	r (ISO 4832)	r (REC2 COL)
Niveau 1 (10 – 100 UFC/ml)	0,20	0,19
Niveau 2 (100 – 1 000 UFC/ml)	0,16	0,16
Niveau 3 (1 000 – 10 000 UFC/ml)	0,19	0,20

3.5.2.2 Limite de reproductibilité

Pour chaque méthode et chaque niveau a été calculée la **limite de reproductibilité** : $R = 2,8 S_R$, avec S_R : écart-type de reproductibilité

Tableau 3 : Limites de reproductibilité R (log UFC/ml)

	R (ISO 4832)	R (REC2 COL)
Niveau 1 (10 – 100 UFC/ml)	0,31	0,22
Niveau 2 (100 – 1 000 UFC/ml)	0,31	0,30
Niveau 3 (1 000 – 10 000 UFC/ml)	0,38	0,26

3.5.2.3 Conclusion

Pour les trois niveaux, les deux méthodes sont comparables en terme de répétabilité et de reproductibilité.

4 Praticabilité

La praticabilité a été étudiée en fonction des 13 critères définis par le bureau technique en comparant la méthode de référence NF ISO 4832 dans son ensemble au dénombrement des coliformes.

- mode de conditionnement des éléments de la méthode :

Le milieu RAPID'*E.coli* 2 est proposé en flacons de milieu prêt à l'emploi ou en flacons de poudre déshydratée.

- volumes des réactifs :

100 ml par flacon de milieu prêt à l'emploi

500 g par flacon de poudre déshydratée

- conditions de stockage :

La température de stockage est indiquée sur les conditionnements, ainsi que dans la fiche technique.

La température de stockage est de +2 ° 8°C pour le milieu prêt à l'emploi et de +15 ° 25°C pour le milieu déshydraté

- péremption :

Précisions sur le coffret et sur chaque boîte.

La validité du milieu est de 14 mois pour le milieu prêt à l'emploi et de 39 mois pour le milieu déshydraté.

- modalités d'utilisation après première utilisation :

Pour le milieu déshydraté, il est nécessaire de bien agiter la poudre avant chaque utilisation.

- équipements ou locaux spécifiques nécessaires :

Configuration normale et matériel courant d'un laboratoire de microbiologie.

- réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer :

/

- durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode :

Pour un opérateur formé aux techniques classiques de microbiologie, la formation à la technique nécessite moins de 1 jour.

- temps réel de manipulation et flexibilité de la technique par rapport au nombre d'échantillons à analyser

Etapas	Temps moyen pour un échantillon (min)	
	Norme ISO 4832	RAPID' <i>E.coli</i> 2
Préparation, pesée, dilutions	7	7
Ensemencement	3	1,5
Lectures, interprétation et calcul	1	1
Temps total moyen	11 minutes	9.5 minutes

- délai d'obtention des résultats :

Les résultats sont obtenus en 24 heures pour les deux méthodes : méthode NF ISO 4832 et méthode RAPID'*E.coli* 2.

- type de qualification de l'opérateur :

Niveau identique à celui nécessaire pour la méthode de référence

- étapes communes avec la méthode de référence :

Seuls le milieu utilisé et la couleur des colonies caractéristiques diffèrent entre les deux méthodes.

- traçabilité des résultats d'analyse :

/

5 Etude bibliographique

Aucune publication mentionnant l'utilisation du milieu RAPID'E.coli 2 pour le dénombrement des coliformes n'a été trouvée.

La méthode RAPID'E.coli 2 est validée par d'autres organismes :

- la validation AOAC RI, Certificate N° 050601 a été obtenue en 2005, en comparaison à la méthode AOAC officielle par NPP, et a donné lieu à la publication suivante :
[Lauer, W.F., Martinez, F. and Patel, A. \(2007\) Validation of RAPID E.coli 2 for enumeration and differentiation of Escherichia coli and other coliform bacteria in selected foods – Performance-Tested Method 050601 J. AOAC Int. 90\(5\), 1284-315](#)
- la validation NORDVAL, Ref. N° 2005-30-5408-00050, a été obtenue en 2005 sur la base des résultats de l'étude de validation réalisée dans le cadre de la certification AFNOR Validation :

6 Conclusion

La méthode RAPID'E.coli 2 a été comparée à la méthode NF ISO 4832.

Les résultats obtenus lors de l'étude comparative des méthodes permettent de conclure que :

- la relation entre les deux méthodes est linéaire,
- l'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est satisfaisante. Les valeurs de répétabilité (en log) obtenues pour la méthode alternative et la méthode de référence sont de 0,18 log pour la méthode alternative et 0,14 log pour la méthode de référence en réalisant les incubations à 30°C ou 0,11 log pour la méthode de référence en réalisant les incubations à 37°C. Le biais entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence), calculée sur les données d'exactitude est $D = -0,01$ log.

Les résultats obtenus lors de l'étude interlaboratoire permettent de conclure que :

- pour tous les niveaux, l'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est globalement satisfaisante. L'hypothèse, selon laquelle le biais entre les deux méthodes est nul, est vérifiée pour tous les niveaux, au risque de 2%.
- les valeurs de répétabilité sont équivalentes pour les deux méthodes : elles varient de 0,16 à 0,20 log (UFC/ml)
- les valeurs de reproductibilité sont moins élevées pour la méthode alternative que pour la méthode de référence : elle varie de 0,31 à 0,38 log (UFC/ml) pour la méthode de référence et de 0,22 à 0,30 log (UFC/ml) pour la méthode alternative. Statistiquement, elles sont considérées comme comparables.
- la dispersion des résultats entre les laboratoires est plus importante pour la méthode de référence que pour la méthode alternative.

Lille, le 27 juillet 2009



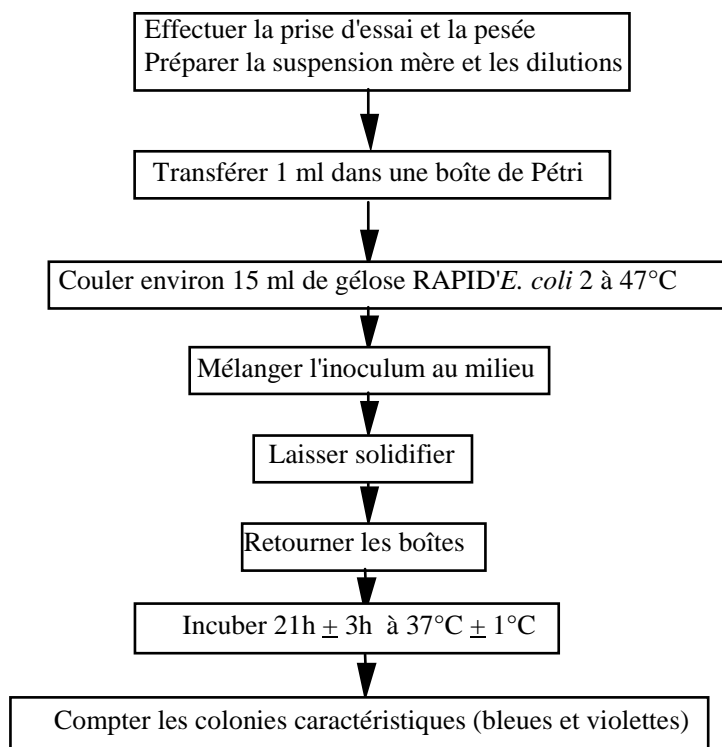
Virginie Ewe
Responsable Etudes

ANNEXES

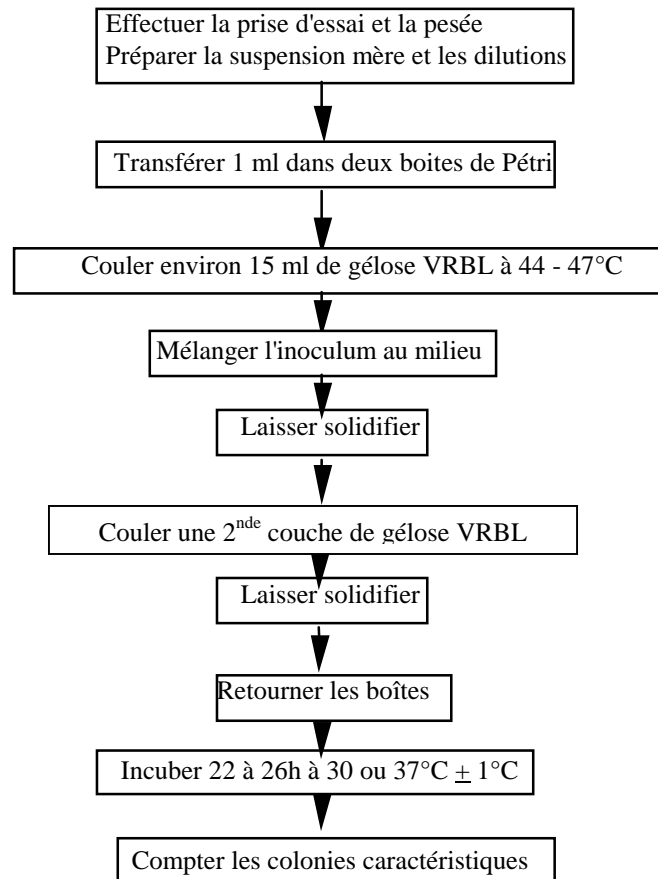
ANNEXE A :

PROTOCOLES ANALYTIQUES

DENOMBREMENT DES COLIFORMES SELON LA METHODE RAPID'*E.coli* 2



DENOMBREMENT DES COLIFORMES SELON LA NORME NF ISO 4832



ANNEXE B :

EXACTITUDE RELATIVE
-
RESULTATS

RESULTATS DES DENOMBREMENTS DE COLIFORMES (UFC/g)

Code	Cat	Produit	Méthode de référence ((VRBL à 30°C))		Méthode de référence ((VRBL à 37°C))		Méthode alternative (log(REC2 à 37°C))	
			Résultat 1	Résultat 2	Résultat 1	Résultat 2	Résultat 1	Résultat 2
3	PC	merguez	5000	5182	2091	2227	1200	1273
4	PC	saucisse de veau	550	595	286	268	230	140
11	PC	gigot d'agneau	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
12	PC	blanquette de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
13	PC	merguez	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
14	PC	escalope de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
26	PC	steak de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
27	PC	filet de poulet	773	667	786	759	818	1364
28	PC	filet de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
29	PC	rognons de bœuf	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
32	PC	escalope de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
33	PC	steak haché	2050	2864	6136	5918	2727	4182
34	PC	chipolata	1300	1568	1818	2136	1264	1609
35	PC	escalope de veau	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
38	PC	escalope de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
39	PC	steak de dinde	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
64	PC	viande hachée	291	255	227	218	245	200
65	PC	viande hachée	6273	6455	5864	6000	5909	5545
82	PC	bœuf haché	85	95	105	76	118	82
83	PC	jambon fumé	1123	841	1064	877	1082	982
84	PC	steak cheval	9818	10818	11091	10227	10000	10545
L3	PL	glace nougat	<1	<1	<1	<1	<1	<1
L4	PL	glace chocolat	<1	<1	<1	<1	<1	<1
5	PL	lait cru	45909	32273	39091	24091	35455	53636
10	PL	reblochon	45000	37500	31500	29000	31000	5182
24	PL	reblochon	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
25	PL	roquefort	1295	1636	1333	1955	1573	1700
36	PL	fromage au lait cru	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
37	PL	tomme	273	277	250	273	236	273
77	PL	brie	1459	1368	1427	1423	1464	1491
78	PL	reblochon	8045	9864	8136	10227	8000	12455
85	PL	fromage au lait cru	77	95	95	70	91	145
86	PL	fromage au lait cru	255	273	305	309	336	273
87	PL	fromage au lait cru	1045	918	1073	991	1082	964
88	PL	fromage au lait cru	2818	2773	2864	2682	3273	4091
15	PV	taboulé	>15000	>15000	10550	>15000	>15000	>15000
16	PV	concombre	>15000	>15000	>15000	>15000	>15000	>15000
19	PAT	salade de pâtes	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
21	PV	salade de tomates	34000	45000	40000	37000	41000	59000
30	PV	épinards	5727	7591	6182	8045	6364	8364
47	PV	betterave rouge	855	882	882	1032	1091	955
50	PV	macédoine	30000	24000	25000	29000	28000	24000
56	PV	compote de fruits	22000	22500	21500	20500	14636	16182
58	PV	chou rouge	5182	5636	3409	3591	4091	4818
67	PV	chou rouge	223	218	214	241	182	218
68	PV	chou rouge	6136	6818	5455	5818	5636	5091
69	PV	pommes de terre	49500	47500	44000	51500	43000	41000
71	PV	tomates au thon	2227	2409	2864	2409	1909	2818
7	PP	poisson	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
8	PP	poisson	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
9	PP	poisson	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000	>150000
22	PP	thon	146500	125500	146500	125500	81000	89000
42	PP	moules	4955	6864	2045	2455	973	1100
61	PP	crevettes CA	2545	2364	2864	3409	2273	2455
62	PP	moules CA	500	473	441	464	473	518
63	PP	crevettes CA	1064	1118	1068	1050	1009	1064
75	PP	calamars CA	945	955	1127	1000	982	909
76	PP	calamars CA	3409	2955	3273	3682	3000	2727
79	PP	saumon fumé	81	110	85	90	90	109
80	PP	filet cabillaud CA	1114	1023	1018	941	973	1055
81	PP	filet marlin CA	10273	9318	10818	10136	10545	10000
17	PAT	savarin choco	2773	3091	2500	2545	1900	2091
18	PAT	éclair crème	1395	2000	705	623	755	1264
20	PAT	éclair au café	364	418	118	141	273	236
23	PAT	crème chocolat	37500	50500	24500	34500	18000	32000
40	PAT	crème à la banane	63500	64000	48000	50000	60000	51000
51	PAT	tarte aux pommes	318	336	355	350	200	145
57	PAT	fraisier	1068	1195	859	945	1191	1045
60	PAT	gateau abricot	400	323	341	373	336	409
66	PAT	chou à la crème	<10	<10	<10	<10	<10	<10
73	PAT	chou à la crème	<10	<10	<10	<10	<10	<10
70	PAT	éclair au café	600	595	564	527	518	464
72	PAT	gateau aux pêches	3682	4182	4227	5136	4636	4727

ANNEXE C :

SPECIFICITE

Résultats de spécificité sur milieu RAPID'E.coli 2

Souche	Origine	PCA à 30°C		REC2 à 37°C	
		Culture	Nombre de colonies	Couleur des colonies	Nombre de colonies
<i>Citrobacter diversus</i>	Aliments animaux	Positive	146	bleu	120
		Positive	132	bleu	112
<i>Citrobacter diversus</i>	Herbes séchées	Positive	136	bleu	152
		Positive	143	bleu	140
<i>Citrobacter diversus</i>	Levure	Positive	164	bleu	123
		Positive	112	bleu	99
<i>Citrobacter freundii</i>	Produit carné	Positive	39	bleu	40
		Positive	55	bleu	58
<i>Citrobacter freundii</i>	Végétaux	Positive	38	bleu	44
		Positive	59	bleu	56
<i>Citrobacter freundii</i>	Poisson	Positive	33	bleu	46
		Positive	51	bleu	50
<i>Citrobacter freundii</i>	Lait	Positive	66	bleu	67
		Positive	90	bleu	93
<i>Enterobacter amnigenus</i>	Brochette de poisson	Positive	96	bleu	87
		Positive	71	bleu	76
<i>Enterobacter amnigenus</i>	Jambon	Positive	60	bleu	70
		Positive	67	bleu	73
<i>Enterobacter cloacae</i>	Produit laitier	Positive	86	bleu	91
		Positive	81	bleu	75
<i>Enterobacter cloacae</i>	Produit laitier	Positive	48	bleu	50
		Positive	63	bleu	42
<i>Enterobacter cloacae</i>	Produit laitier	Positive	118	bleu	127
		Positive	110	bleu	124
<i>Enterobacter cloacae</i>	Produit laitier	Positive	88	bleu	105
		Positive	91	bleu	86
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Aliments animaux	Positive	135	bleu	140
		Positive	113	bleu	104
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Pâtisserie	Positive	75	bleu	85
		Positive	59	bleu	51
<i>Escherichia coli</i> O157	Collection	Positive	36	bleu	35
		Positive	103	bleu	89
<i>Escherichia hermanii</i>	Aliments animaux	Positive	56	bleu-gris	44
		Positive	102	bleu-gris	67
<i>Escherichia hermanii</i>	Produit carné	Positive	50	bleu	56
		Positive	143	bleu	124
<i>Escherichia hermanii</i>	Produit laitier	Positive	22	bleu	19
		Positive	89	bleu	78
<i>Escherichia vulneris</i>	Produit carné	Positive	31	bleu	14
		Positive	112	bleu	86
<i>Hafnia alvei</i>	Foie de porc	Positive	90	bleu très clair	90
		Positive	82	bleu-gris	69
<i>Hafnia alvei</i>	Reblochon	Positive	80	blanc	95
		Positive	75	blanc	71
<i>Hafnia alvei</i>	Persil	Positive	75	blanc	90
		Positive	76	bleu-gris	81
<i>Hafnia alvei</i>	Flétan	Positive	84	blanc	75
		Positive	50	bleu-gris	65
<i>Hafnia alvei</i>	Viande hachée	Positive	127	bleu-gris	134
		Positive	119	bleu-gris	124
<i>Hafnia alvei</i>	Lait cru	Positive	109	bleu	90
		Positive	134	bleu	132
<i>Hafnia alvei</i>	Echine de porc	Positive	126	bleu-gris	118
		Positive	97	bleu-gris	94
<i>Hafnia alvei</i>	Rognons de porc	Positive	150	blanc	132
		Positive	101	blanc	99
<i>Hafnia alvei</i>	Persil	Positive	123	bleu-gris	135
		Positive	59	bleu-gris	59
<i>Hafnia alvei</i>	Brochette de poisson	Positive	134	bleu-gris	115
		Positive	128	bleu-gris	109
<i>Hafnia alvei</i>	Concombre	Positive	121	bleu-gris	121
		Positive	107	bleu-gris	100
<i>Hafnia alvei</i>	Tomate	Positive	150	bleu-gris	147
		Positive	89	bleu-gris	82
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Aliments animaux	Positive	40	bleu	54
		Positive	134	bleu	133
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Poisson	Positive	62	bleu	65
		Positive	36	bleu	41
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Poudre de lait	Positive	42	bleu	40
		Positive	36	bleu	42
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Macédoine	Positive	55	bleu	58
		Positive	38	bleu	37
<i>Moellerella wisconsinensis</i>	Andouillette	Positive	45	bleu	80
		Positive	46	bleu	56
<i>Serratia marcescens</i>	Lait cru	Positive	45	bleu	33
		Positive	55	bleu	34
<i>Serratia liquefaciens</i>	Andouillette	Positive	63	bleu	51
		Positive	45	bleu-gris	35

Souche	Origine	PCA à 30°C		REC2 à 37°C	
		Culture	Nombre de colonies	Couleur des colonies	Nombre de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Rognons de porc	Positive	60	violet	45
		Positive	74	violet	71
<i>Escherichia coli</i>	Chou rouge	Positive	47	violet	41
		Positive	70	violet	72
<i>Escherichia coli</i>	Persil	Positive	89	violet	88
		Positive	88	violet	78
<i>Escherichia coli</i>	Pâtisserie	Positive	123	violet	121
		Positive	122	violet	109
<i>Escherichia coli</i>	Crépinette	Positive	56	violet	53
		Positive	106	violet	98
<i>Escherichia coli</i>	Crépinette	Positive	111	violet	114
		Positive	145	violet	137
<i>Escherichia coli</i>	Chair à saucisse	Positive	134	violet	123
		Positive	98	violet	94
<i>Escherichia coli</i>	Tomate	Positive	87	violet	69
		Positive	84	violet	99
<i>Escherichia coli</i>	Céleri rémoulade	Positive	79	violet	78
		Positive	105	violet	111
<i>Escherichia coli</i>	Crème vanille	Positive	65	violet	60
		Positive	126	violet	120
<i>Escherichia coli</i>	Merguez	Positive	143	violet	141
		Positive	96	violet	98
<i>Escherichia coli</i>	Foie de porc	Positive	54	violet	56
		Positive	107	violet	110
<i>Escherichia coli</i>	Lait cru	Positive	67	violet	66
		Positive	122	violet	121
<i>Escherichia coli</i>	Fromage au lait cru	Positive	132	violet	142
		Positive	141	violet	129
<i>Escherichia coli</i>	Moules	Positive	128	violet	108
		Positive	109	violet	100
<i>Escherichia coli</i>	Chair à saucisse	Positive	76	violet	71
		Positive	56	violet	59
<i>Escherichia coli</i>	Carottes râpées	Positive	97	violet	89
		Positive	89	violet	81
<i>Escherichia coli</i>	Pâtisserie	Positive	104	violet	100
		Positive	76	violet	77
<i>Escherichia coli</i>	Chou à la crème	Positive	57	violet	61
		Positive	98	violet	91
<i>Escherichia coli</i>	Crème pâtissière	Positive	113	violet	101
		Positive	73	violet	77
<i>Escherichia coli</i>	Taboulé	Positive	93	violet	91
		Positive	91	violet	84
<i>Escherichia coli</i>	Crème chantilly	Positive	71	violet	67
		Positive	107	violet	100
<i>Escherichia coli</i>	Lardons	Positive	132	violet	129
		Positive	99	violet	94
<i>Escherichia coli</i>	Saumon fumé	Positive	96	violet	91
		Positive	141	violet	136
<i>Escherichia coli</i>	Filet de rouget	Positive	153	violet	152
		Positive	38	violet	30
<i>Escherichia coli</i>	Sandwich	Positive	49	violet	46
		Positive	99	violet	91
<i>Escherichia coli</i>	Pâtisserie	Positive	100	violet	99
		Positive	116	violet	109
<i>Escherichia coli</i>	Foie de porc	Positive	113	violet	111
		Positive	125	violet	123
<i>Escherichia coli</i>	Rognons de porc	Positive	88	violet	85
		Positive	94	violet	93
<i>Escherichia coli</i>	Lait cru	Positive	111	violet	100
		Positive	114	violet	109

Souche	Origine	PCA à 30°C		REC2 à 37°C	
		Culture	Nombre de colonies	Couleur des colonies	Nombre de colonies
<i>Erwinia spp.</i>	Collection	Positive	23	blanc-gris	22
		Positive	112	blanc-gris	98
<i>Proteus mirabilis</i>	Produit carné	Positive	93	gris	72
		Positive	145	gris	132
<i>Proteus mirabilis</i>	Foies de volaille	Positive	115	blanc	93
		Positive	102	blanc	100
<i>Providencia</i>	Collection	Positive	132	blanc	98
		Positive	114	blanc	75
<i>Providencia</i>	Collection	Positive	156	blanc	121
		Positive	103	blanc	89
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Filet de rouget	Positive	30	blanc	26
		Positive	87	blanc	77
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Poitrine de porc	Positive	59	blanc	54
		Positive	85	blanc	82
<i>Salmonella arizonae IIIb 61:-</i>	Dinde	Positive	66	violet	72
		Positive	45	violet	32
		Positive	66	violet	72
		Positive	45	violet	32
<i>Salmonella arizonae IIIa 48:24:223</i>	Elevage d'oie	Positive	116	bleu	115
		Positive	76	bleu	79
<i>Salmonella arizonae IIIb 61:iz53</i>	Cuisse de poulet	Positive	96	violet	90
		Positive	97	violet	90
		Positive	96	violet	90
		Positive	97	violet	90
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Ovoproduit	Positive	121	blanc-gris	103
		Positive	105	blanc-gris	100
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Foie de porc	Positive	83	blanc-gris	70
		Positive	103	blanc-gris	79
<i>Shigella flexneri</i>	Collection	Positive	25	blanc-gris	22
		Positive	56	blanc-gris	44
<i>Shigella flexneri</i>	Collection	Positive	30	bleu-gris	41
		Positive	35	bleu-gris	40
<i>Shigella sonnei</i>	Collection	Positive	26	violet	30
		Positive	33	violet	27
		Positive	26	violet	30
		Positive	33	violet	27
<i>Yersinia kristensenii</i>	Collection	Positive	27	blanc	16
		Positive	67	blanc	46
<i>Yersinia enteritidis</i>	Ovoproduit	Positive	12	blanc	0
		Positive	34	blanc	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Ovoproduit	Positive	28	blanc	20
		Positive	45	blanc	43
<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit laitier	Positive	46		0
		Positive	103		0
<i>Bacillus cereus</i>	Betteraves	Positive	28		0
		Positive	45		0

VRBL à 30°C			VRBL à 37°C		
Couleur des colonies	Nombre de colonies		Couleur des colonies	Nombre de colonies	
violet	70		violet	70	
violet	38		violet	35	

VRBL à 30°C			VRBL à 37°C		
Couleur des colonies	Nombre de colonies		Couleur des colonies	Nombre de colonies	
violet	95		violet	93	
violet	85		violet	30	

VRBL à 30°C			VRBL à 37°C		
Couleur des colonies	Nombre de colonies		Couleur des colonies	Nombre de colonies	
violet	28		violet	33	
violet	25		violet	30	