

OXOID
THERMO FISHER SCIENTIFIC
6 route de Paisy
F-69571 DARDILLY

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

Rapport de synthèse

**Etude de reconduction
de la validation ISO 16140
de la méthode Listeria Precis™ pour
le dénombrement de Listeria monocytogenes**

Ce document comprend 46 pages dont 3 annexes.
La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale.

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

5 juillet 2010

ADRIA DEVELOPPEMENT

Creac'h Gwen - F. 29196 QUIMPER Cedex - Tél. (33) 02.98.10.18.18 - Fax (33) 02.98.10.18.99

E-mail : adria.developpement@adria.tm.fr - Site web : <http://www.adria.tm.fr>

ASSOCIATION LOI DE 1901 - N° SIRET 306 964 271 00036 - N° EXISTENCE 532900006329 - N°TVA FR4530696427100036

Sommaire

1	RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE	4
1.1	Date de la première validation et date de reconduction	4
1.2	Protocole et principe de la méthode alternative	4
1.3	Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée	5
1.4	Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale	6
1.4.1	<i>Etude comparative des méthodes</i>	6
1.4.1.1	Etude de linéarité	6
1.4.1.2	Exactitude relative	10
1.4.1.2	Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)	16
1.4.1.3	Sensibilité relative	17
1.4.1.4	Spécificité / Sélectivité	18
1.4.1.5	Praticabilité	18
1.4.1.6	Mode de confirmation des positifs	19
1.4.2	<i>Etude interlaboratoire</i>	19
1.4.2.1	Organisation	19
1.4.2.2	Modalités de préparation et de contamination des échantillons	19
1.4.2.3	Modalités d'expédition	20
1.4.2.4	Éléments nécessaires à la réalisation des essais par les laboratoires collaborateurs	20
1.4.2.5	Vérification des paramètres expérimentaux	20
1.4.2.6	Résultats des analyses	22
1.4.3	<i>Conclusion</i>	30
1.5	Bilan des modifications intervenues dans la méthode alternative, ayant donné lieu ou non à une extension de validation	31
2	ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	31
<input type="checkbox"/>	Annexe 1 - Liste des laboratoires collaborateurs	32
<input type="checkbox"/>	Annexe 2 – Graphiques de Mandel	33
<input type="checkbox"/>	Annexe 3 – Résultats statistiques	35

Avant Propos

L'ensemble des renseignements permettant de valider la garantie des analyses est tenu à la disposition de la Société OXOID THERMO FISHER SCIENTIFIC.

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

- ✓ **Fabricant :** OXOID THERMO FISHER SCIENTIFIC
6 route de Paisy
69571 DARDILLY

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

- ✓ **Méthodes étudiée :** Méthode *Listeria* PreciTM pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes*

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

- ✓ **Méthodes de référence[♦] :** Norme NF EN ISO 11290-2/A1: Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement de *Listeria monocytogenes* - Partie 2 : méthode de dénombrement - Amendement 1 : modification du milieu d'isolement

- ✓ **Etendue de l'étendue :** Tous produits d'alimentation humaine

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

1 RAPPEL SUR LA METHODE ALTERNATIVE

1.1 Date de la première validation et date de reconduction

La méthode *Listeria* Precis™ a été validé le 15 septembre 2006 (n° attestation UNI 03/05-09/06). La validation expire le 15 septembre 2010. Les résultats avaient alors été acquis par l'ASEPT.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

La méthode *Listeria* Precis™ pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* est une méthode incluant un diluant et un milieu chromogène pour la détection spécifique de *Listeria monocytogenes*. Le protocole est présenté ci-après :

Dilution de x g d'échantillon dans 9 x ml de bouillon EPT
Revivification 1 h ± 5 min à 20°C ± 1°C



Etalement de 0,1 ml sur 1boîte de gélose *Brilliance Listeria*
Incubation 24h ± 2h à 48h à 37°C ± 1°C

(Pour les taux faibles, ensemencement de 1 ml sur trois boîtes de Petri
contenant la gélose *Brilliance Listeria*)



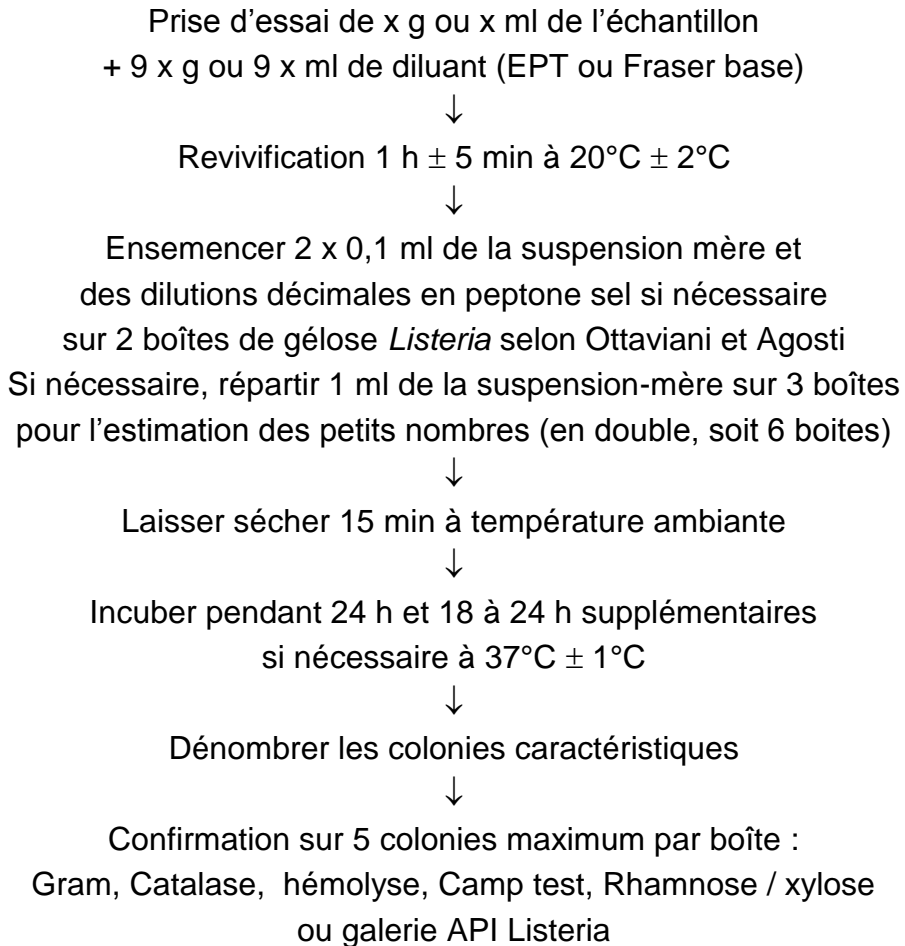
Purification d'au moins une colonie présentant un aspect caractéristiques
(colonies bleues, de diamètre inférieur à 3 mm, à bords réguliers et avec
halo blanc) et confirmation par les tests classiques des méthodes
normalisées

Ou

Réalisation du test OBIS mono directement à partir d'une colonie bien isolée
(dans le cas d'absence de colonies bien isolées, réaliser un nouvel
isolement sur gélose *Brilliance Listeria* avant de réaliser le test OBIS mono)

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

La méthode de référence utilisée est la méthode NF EN ISO 11290-2/A1 présentée ci-après :



1.4 Principaux résultats obtenus lors de la validation initiale

Les essais ont été réalisés par l'ASEPT.

1.4.1 Etude comparative des méthodes

1.4.1.1 Etude de linéarité

Matrices utilisées

Six couples « matrice – souche » ont été utilisés pour cette étude :

- Rillettes - *Listeria monocytogenes* 4e isolée de rillettes,
- Lait cru - *Listeria monocytogenes* 1/2a isolée de lait cru,
- Laitue - *Listeria monocytogenes* 1/2a isolée de salade,
- Saumon fumé - *Listeria monocytogenes* 1/2b isolée de saumon fumé,
- Ovoproduit cru - *Listeria monocytogenes* 1/2a isolée de jaune d'œuf liquide,
- Eau de process – *Listeria monocytogenes* 1/2a isolée de siphon de sol.

Protocole de contamination

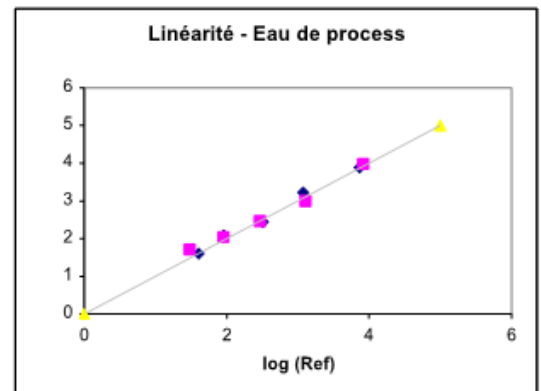
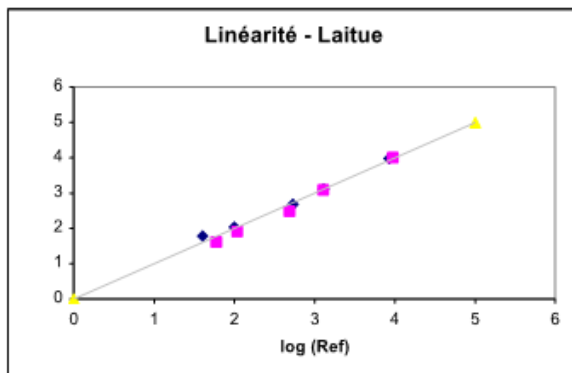
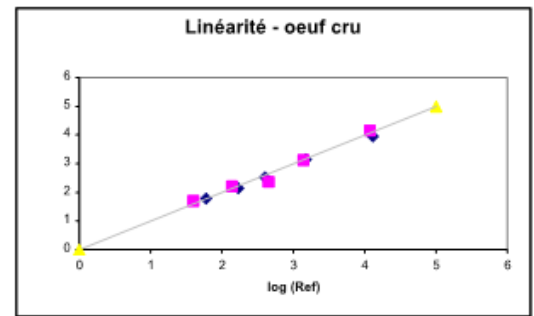
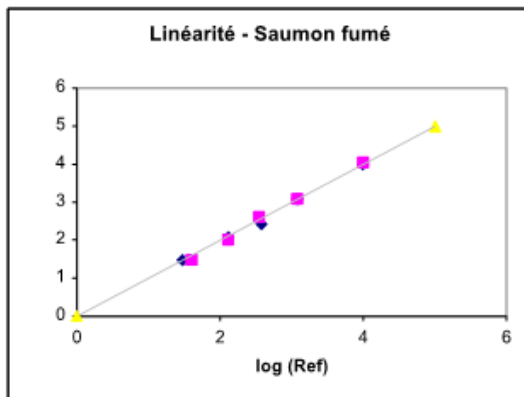
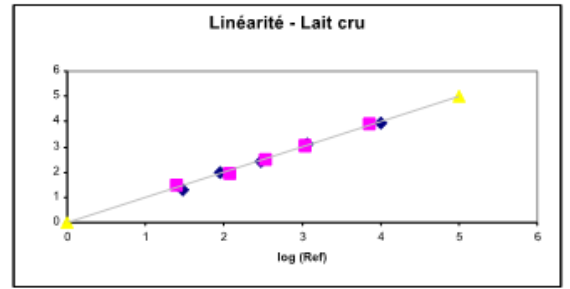
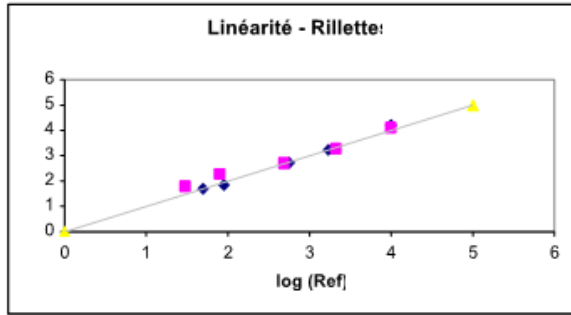
Les niveaux de contamination étudiés ont été les suivants :

- 10 à 50 ufc par gramme,
- 50 à 100 ufc par gramme,
- 100 à 500 ufc par gramme,
- 500 à 1 000 ufc par gramme,
- 1 000 à 10 000 ufc par gramme.

Les échantillons ont été contaminés individuellement par la souche bactérienne, et analysés en double, par la méthode alternative et par la méthode de référence.

Résultats bruts

Les graphiques bidimensionnels présentant les valeurs de chaque échantillon, avec en abscisse la valeur en log obtenue par la méthode de référence et en ordonnée la valeur en log obtenue par la méthode alternative, sont présentés ci-dessous.



□ Interprétation statistique

Le tableau 1 présente une synthèse des calculs statistiques réalisés

Tableau 1

Matrice	R	Régression utilisée	Rob. F	Valeur critique	p%	Coefficient de corrélation	Droite de régression *
Rillettes	1,80	GMFR	6,09	5,41	4	0,9960	$\log(\text{Alt})=0,9887\log(\text{Ref})+ 0,1141$
Laitue	1,08	GMFR	0,00	5,41	100	0,9992	$\text{Log}(\text{Alt})=1,0081\log(\text{Ref})-0,0257$
Lait cru	1,02	GMFR	0,00	5,41	100	0,9997	$\text{Log}(\text{Alt})=1,0188\log(\text{Ref})-0,0737$
Saumon fumé	10,48	OLS1	1,806	5,41	26,3	0,9984	$\text{Log}(\text{Alt})=1,0406\log(\text{Ref})-0,1418$
Œuf cru	1,30	GMFR	5,48	5,41	4,9	0,9958	$\text{Log}(\text{Alt})=0,9775\log(\text{Ref})-0,0161$
Eau de process	1,84	GMFR	0,079	5,41	96,9	0,9985	$\text{Log}(\text{Alt})=0,9680\log(\text{Ref})+0,1317$

GMFR : régression linéaire orthogonale

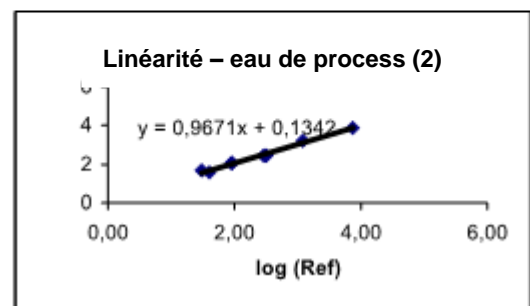
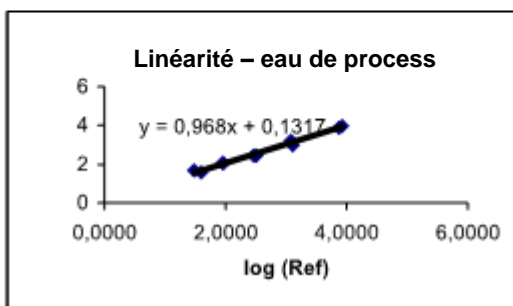
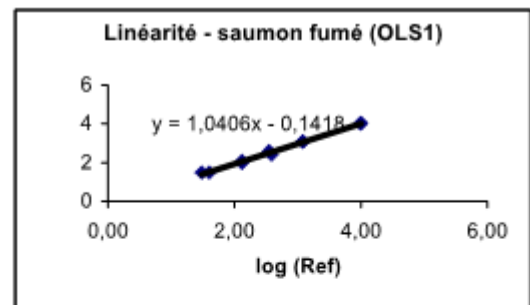
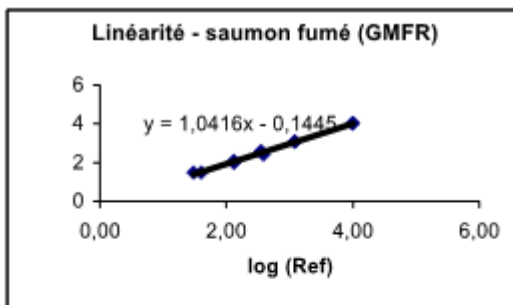
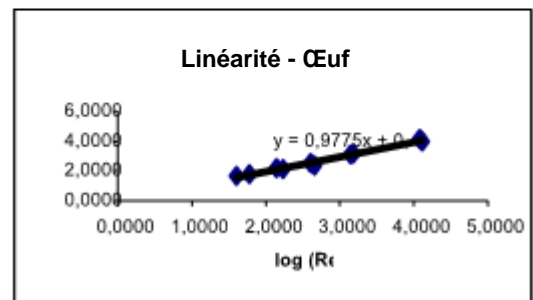
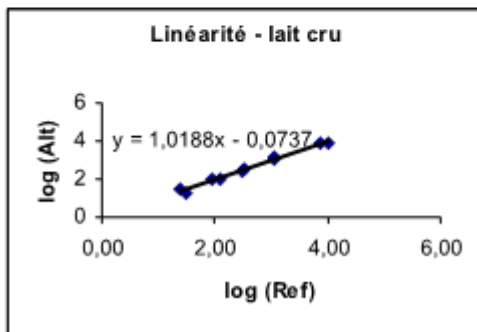
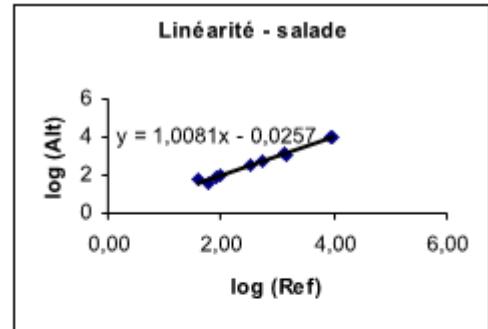
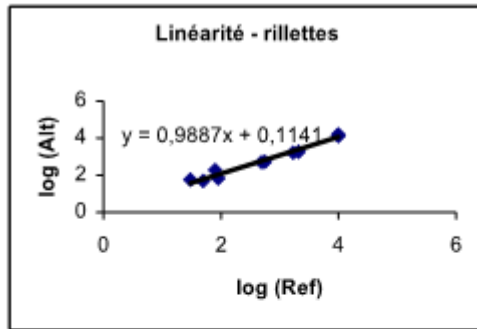
OLS : régression linéaire par moindres carrés ordinaires (OLS1 lorsque l'axe des x correspond aux valeurs de la méthode de référence et OLS2 lorsque l'axe des x correspond aux valeurs de la méthode alternative).

Une valeur de p% inférieure à 5 % indique une non linéarité au risque $\alpha = 5 \%$.

Pour les matrices laitue, saumon fumé, œuf cru, eau de process (régression GMFR) et lait cru la relation entre les deux méthodes étudiées est linéaire au risque $\alpha = 5 \%$.

Pour les matrices rillettes et eau de process (régression OLS1), la relation est non linéaire au risque 5 %, mais linéaire au risque $\alpha = 1 \%$ ($p = 4 \%$) et les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0,99.

Les graphes ci-dessous présentent les droites de régression pour chaque matrice.



En conclusion, tous les coefficients de corrélation obtenus sont supérieurs à 0,99. La linéarité de la méthode alternative apparaît satisfaisante.

1.4.1.2 Exactitude relative

□ Nature des échantillons

Des échantillons issus de cinq matrices alimentaires et de prélèvements d'environnement, avec 3 types par catégorie, ont été analysés par les deux méthodes. Le tableau 2 présente la répartition des échantillons analysés en fonction des catégories (seuls figurent les échantillons pour lesquels au moins un résultat par l'une des deux méthodes présentait des colonies typiques : de nombreux autres échantillons ont été analysés afin de trouver des échantillons naturellement contaminés, mais ont donné un résultat inférieur au seuil de détection par les deux méthodes).

Tableau 2

Catégories	Types	Nombre d'échantillons	
		Analysés	Exploités (1)
Produits carnés	Viandes crues	6	4
	Produits carnés transformés à cuire	4	2
	Charcuteries prêtes à consommer	10	4
	Total	20	10
Produits laitiers	Fromages au lait cru	7	4
	Laits crus	4	3
	Autres produits laitiers	5	5
	Total	16	12
Produits de la pêche	Poissons crus	5	4
	Poissons transformés	7	2
	Produits prêts à consommer	6	4
	Total	18	10
Produits végétaux	Végétaux crus	5	4
	Végétaux surgelés	3	3
	Salades, crudités	5	5
	Total	13	12
Ovoproduits	Oeufs crus	5	5
	Pâtisseries	3	3
	Ovoproduits pasteurisés	4	3
	Total	12	11
Prélèvements d'environnement	Prélèvements de surfaces	8	4
	Eaux de process	3	3
	Poussières et résidus	3	3
	Total	14	10
TOTAL	93	65	

(1) Les résultats non exploités sont issus d'échantillons pour lesquels au moins une des valeurs est inférieure au seuil de détection de la méthode.

☐ Contamination artificielle des échantillons

Des contaminations artificielles ont été réalisées sur toutes les catégories de produits, selon les protocoles suivants :

Tableau 3

Stress N°	Nature du stress	Souche utilisée	Origine
A	45 min à 50 °C	48 LM-H123 LM-H170	Saumon fumé Salade Salade
B	30 min à 50 °C et 2 h à -20°C	18 43 LM-O1	Lait cru, environnement Environnement Ovoproduit
C	30 min à 55°C	18 48 LM-H123	Lait cru Saumon fumé Salade
D	30 min à 50°C et 2h à -80°C	34 LM-H171 LM-O1	Rillettes Salade Ovoproduit
E	30 min à 60 °C	LM-O1	Ovoproduit

Le nombre d'échantillons contaminés artificiellement par rapport au nombre d'échantillons positifs est de 56 sur 93, soit 60,2 %. Parmi les résultats positifs exploités, 53 échantillons sur 65 sont artificiellement contaminés, soit un pourcentage de 81,5 %.

Le nombre d'échantillons naturellement contaminés et positifs pour au moins un résultat est de 37. Parmi les résultats exploités, 12 échantillons sont naturellement contaminés, soit un pourcentage de 18,5 %.

☐ Protocole de confirmation

Pour les deux méthodes, les confirmations ont été réalisées par les tests décrits dans la méthode ISO 11290-2/A1. Seul le nombre de colonies confirmées diffère, pour la méthode alternative, une seule colonie par échantillon a été confirmée.

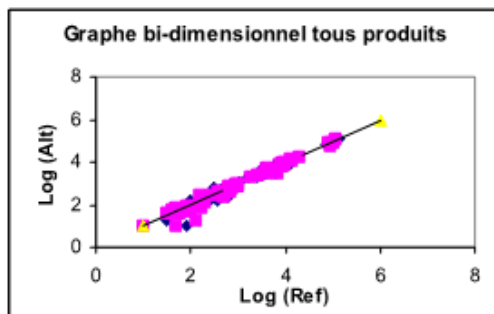
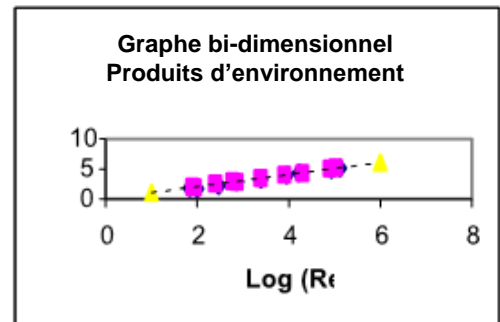
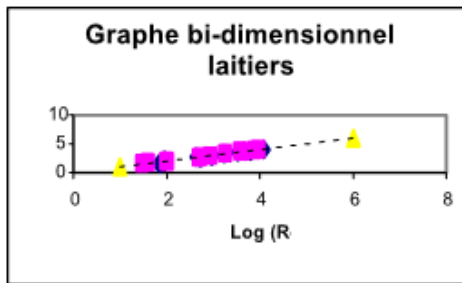
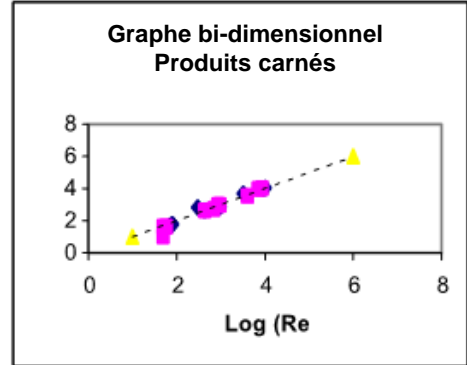
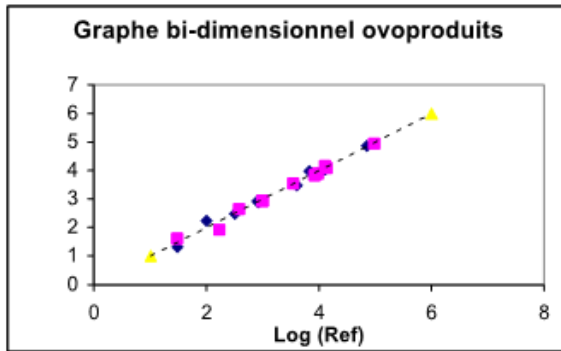
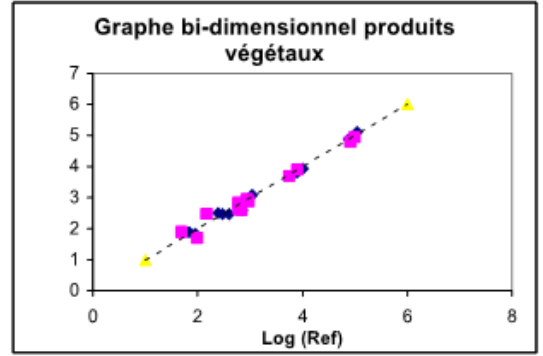
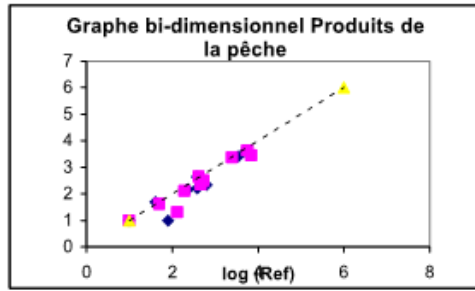
□ Résultats bruts

Le tableau 4 présente les domaines de contamination exprimés en logarithme pour chaque catégorie d'aliments.

Tableau 4

Catégorie d'aliments	Domaine de contamination (log)
Produits carnés	1,00 – 4,04
Produits laitiers	1,48 – 4,08
Produits de la pêche	1,00 – 3,84
Produits végétaux	1,70 – 5,11
Ovoproduits	1,30 – 4,99
Prélèvements d'environnement	1,70 – 5,11
Toutes catégories	1,00 – 5,11

Les graphiques bidimensionnels présentant les valeurs de chaque échantillon, avec en abscisse la valeur en log obtenue par la méthode de référence et en ordonnée la valeur en log obtenue par la méthode alternative, sont présentés ci-dessous.



□ Interprétation

Le tableau 5 présente une synthèse des calculs statistiques.

Tableau 5

Catégorie	n	R	Régression	a	t(a)	b	t(b)	Tcrit	p%	
									Sur b	Sur a
Produits carnés	10	1,58	GMFR	-0,455	3,321	1,15	3,123	2,306	0,01	0,01
Produits laitiers	12	0,65	GMFR	-0,027	0,385	1,002	0,108	2,228	0,92	0,71
Produits de la pêche	10	1,30	GMFR	-0,305	1,024	1,034	0,312	2,306	0,76	0,34
Produits végétaux	12	0,86	GMFR	-0,015	0,128	0,993	0,191	2,228	0,85	0,90
Ovoproduits	11	1,58	GMFR	-0,038	0,866	1,001	0,090	2,262	0,93	0,41
Prélèvements d'environnement	10	1,76	GMFR	-0,139	2,65	1,034	2,31	2,306	0,05	0,03
Tous produits	65	1,18	GMFR	-0,182	3,042	1,040	2,145	2,000	0,04	0,00
Tous produits Nombres estimés	20	1,15	GMFR	-0,367	1,51	1,138	1,141	2,101	0,27	0,15
Tous produits résultats non estimés	45	1,26	GMFR	-0,143	2,01	1,029	1,438	2,021	0,16	0,05

GMFR : régression linéaire orthogonale

Les cases en grisé pour la colonne p% indiquent des valeurs inférieures à 5 %.

Le tableau 6 présente les valeurs du biais (moyen et médian) entre les deux méthodes et les répétabilités pour les deux méthodes.

Tableau 6

Catégorie	Biais		Répétabilité			
	Moyen	médian	r		Rob. r	
			Ref.	Alt.	Ref.	Alt.
Produits carnés	-0,042	0,008	0,313	0,494	0,314	0,343
Produits laitiers	-0,020	-0,031	0,289	0,187	0,136	0,130
Produits de la pêche	-0,216	-0,133	0,196	0,255	0,220	0,214
Produits végétaux	-0,037	-0,041	0,358	0,309	0,180	0,319
Ovoproduits	-0,025	-0,026	0,198	0,313	0,219	0,206
Prélèvements d'environnement	-0,023	-0,007	0,135	0,238	0,198	0,119
Tous produits	-0,060	-0,032	0,264	0,311	0,196	0,215

Toutes les régressions utilisées étant des régressions linéaires orthogonales, l'axe des abscisses représente les valeurs obtenues par la méthode de référence pour toutes les catégories.

□ Conclusion

Les biais entre les deux méthodes varient, en valeur moyenne de -0,216 à -0,020 et en valeur médiane de -0,133 à +0,008 : il n'y a pas de biais systématique entre les deux méthodes, la valeur moyenne globale du biais étant de -0,060 et la valeur médiane de -0,032. Les limites de répétabilité de la méthode alternative sont comparables à celles de la méthode de référence, avec des valeurs ne dépassant pas 0,343 en valeurs robustes.

Concernant les pentes et ordonnées à l'origine, les hypothèses, $b=1$ et $a=0$ sont vérifiées pour toutes les catégories, à l'exception de la catégorie « produits carnés », pour laquelle les $p\%$ sont respectivement de 1 et 1 % et pour les prélèvements d'environnements pour lesquels le $p\%$ sur a est de 3 %. Pour les autres catégories, les $p\%$ sont tous supérieurs à 5 %.

Pour l'ensemble des catégories, le $p\%$ sur l'ordonnée à l'origine est de 0% et le $p\%$ sur la pente de 4 %.

En observant le graphe bi-dimensionnel, il apparaît une différence selon le niveau de contamination et donc le nombre de colonies dénombrées sur les boîtes (résultats estimés ou non). Les calculs ont donc été refaits pour deux types de résultats (nombres estimés ou non estimés) : les $p\%$ sont alors supérieurs à 5%.

En ce qui concerne la catégorie « produits carnés », il est à noter que le test de linéarité avec une valeur de F de 0,663 (ou rob. $F = 2,719$) est accepté et que le coefficient de corrélation est élevé (0,9935).

La méthode *Listeria* Precis™ pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* présente une exactitude satisfaisante.

1.4.1.2 Limite de détection (LOD) et limite de quantification (LOQ)

□ Protocoles d'essai

La souche de *Listeria monocytogenes* 18 isolée de lait cru a été cultivée en bouillon nutritif et utilisée pour ensemercer les boîtes de gélose *Brilliance Listeria*, tel que décrit dans la notice de la méthode *Listeria Precis*TM. 1 ml a été ensemercé sur trois boîtes de gélose et 0,1 ml sur une boîte, les niveaux étant faibles. Les dénombrements de la suspension contaminante ont été réalisés sur dix boîtes de gélose PCA (Plate Count Agar).

Trois niveaux d'inoculation ont été étudiés, avec six réplicats pour chaque niveau.

□ Résultats

Les données sont intrinsèques à la méthode alternative.

Les tableaux ci-après présentent les résultats obtenus. La valeur de s_0 est calculée à partir de la médiane récursive des valeurs individuelles obtenues, tel qu'indiqué en annexe Q de la norme ISO 16140. Le biais correspond à la médiane des valeurs individuelles obtenues.

Ensemencement de 1 ml sur 3 boîtes

Niveau (UFC/ml)	Nombre d'échantillons positifs	Ecart-type s_0	Biais x_0
0	0/6	/	/
0,5	2/6	1,211	0
1	3/6	0,816	0,5
5	6/6	2,483	8,5

Ensemencement de 0,1 ml sur 1 boîte

Niveau (UFC /ml)	Nombre d'échantillons positifs	Ecart-type s_0	Biais x_0
0	0/6	/	/
5	3/6	0,548	0,5
10	4/6	1,414	2
50	6/6	2,258	5,5

Les valeurs de LC, LOD et LOQ sont ensuite calculées et présentées dans le tableau 7.

Tableau 7

	Formule	Valeur obtenue (1 ml sur 3 boîtes)	Valeur obtenue (0,1 ml sur 1 boîte)
LC	$1,65 + x_0$	1,8	1,4
LOD	$3,3 s_0 + x_0$	3,2	2,3
LOQ	$10 s_0 + x_0$	8,7	6,0

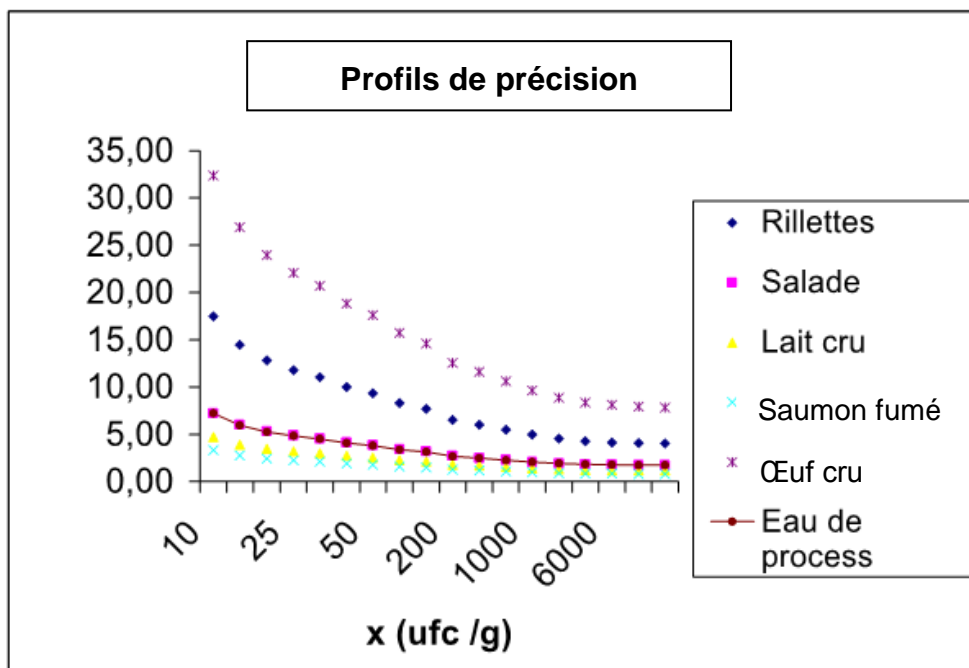
Les limites de détection et de quantification sont respectivement :

- de 3,2 et 8,7 UFC/ml pour un étalement de 1 ml de suspension bactérienne sur trois boîtes,
- 2,3 et 6,0 UFC/ml pour un étalement de 0,1 ml de suspension bactérienne sur une boîte.

1.4.1.3 Sensibilité relative

Les données sont intrinsèques à la méthode et sont obtenues à partir des données de l'étude de linéarité.

Les profils de précision sont présentés sur le graphe suivant pour chaque matrice.



1.4.1.4 Spécificité / Sélectivité

La spécificité et la sélectivité de la méthode alternative n'ont pas été étudiées, compte-tenu de la validation de la méthode pour la recherche de *Listeria monocytogenes*.

1.4.1.5 Praticabilité

Les critères définis dans les exigences du Bureau Technique sont renseignés ci-après :

Critère	Données
1. Mode de conditionnement des éléments de la méthode	La gélose <i>Brilliance Listeria</i> est disponible en conditionnement de 10 boîtes en pré-coulé.
2. Volume des réactifs	Sans objet.
3. Conditions de stockage des éléments et péremption des produits non ouverts	La température de stockage indiquée sur les coffrets est 6-12°C à l'abri de la lumière. La péremption est indiquée sur les coffrets et sur les boîtes. Environ 3 mois.
4. Modalités d'utilisation après première utilisation	Sans objet
5. Equipements ou locaux spécifiques	Equipements : étuve à 37°C. Locaux classiques de laboratoire recherchant des <i>Listeria monocytogenes</i> .
6. Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer	Boîtes prêtes à l'emploi.
7. Durée de formation de l'opérateur non initié à la technique	0,5 jour.
8. Temps réel de manipulation	<u>Méthode de référence</u> : 9 min pour un échantillon ; 55 min pour 10 échantillons <u>Méthode alternative</u> : 7 min pour un échantillon ; 35 minutes pour une série de 10 échantillons
9. Délai d'obtention des résultats d'essais réalisés à Jo	<u>Résultats négatifs</u> : Méthode de référence : J2 Méthode alternative : J2 <u>Résultats négatifs après confirmation ou résultats positifs</u> : Méthode de référence : J4 à J7 Méthode alternative : J4 à J7
10. Type de qualification de l'opérateur	Identique à celle nécessaire pour réaliser la méthode de référence.
11. Etapes communes avec la méthode de référence	Préparation de la suspension mère, revivification, réalisation des dilutions décimales.
12. Traçabilité des résultats d'essais	Sans objet
13. Maintenance par le laboratoire	Sans objet

1.4.1.6 Mode de confirmation des positifs

L'étude réalisée en février 2007 a porté sur 150 souches de *Listeria monocytogenes* et 100 souches d'autres genres et espèces que *Listeria monocytogenes*. Ces souches ont été cultivées en parallèle sur géloses *Brilliance Listeria* et TSA-YE puis les souches donnant des colonies caractéristiques sur gélose *Brilliance Listeria* ont été testées par OBIS mono. Toutes les souches de *Listeria monocytogenes* ont donné un résultat *Listeria monocytogenes* par le test OBIS mono et les souches autres présentant un aspect caractéristique sur gélose *Brilliance Listeria* ont donné un résultat non *Listeria monocytogenes* par le test OBIS mono.

1.4.2 Etude interlaboratoire

1.4.2.2 Organisation

Douze laboratoires ont participé à l'étude (Cf. annexe 1).

La matrice utilisée est un mélange de 50 % de lait pasteurisé demi-écrémé et de 50 % de lait entier pasteurisé. Le lait a été contaminé par une souche de *Listeria monocytogenes* 1/2a isolée de lait cru.

Huit échantillons ont été préparés pour chaque laboratoire. Un témoin de lait non contaminé était joint au colis pour dénombrement de la flore totale aérobique mésophile. Un flacon de lait non contaminé était joint au colis pour prise de température à réception ; il contenait le thermobouton, pour enregistrement de la température durant le transport.

1.4.2.3 Modalités de préparation et de contamination des échantillons

Le lait mélangé et homogénéisé a été réparti à raison de 10 ml par flacon stérile. Les taux visés d'inoculation étaient :

- < 10 / ml
- 50 / ml
- 500 / ml
- 5 000 / ml

Deux flacons ont été préparés pour chaque taux.

1.4.2.4 Modalités d'expédition

Les flacons d'échantillons de lait ont été placés dans des boîtes isothermes en polystyrène, et ont été accompagnés de blocs froids, d'un flacon de lait pour prise de température à réception, d'un flacon de lait pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile et d'un thermobouton. La boîte isotherme a été placée dans un carton contenant une enveloppe pour le retour du thermobouton au laboratoire organisateur.

Les colis ont été expédiés par transporteur le lundi 29/05/2006.

1.4.2.5 Éléments nécessaires à la réalisation des essais par les laboratoires collaborateurs

Les réactifs nécessaires à la réalisation de l'étude ont été fournis par le fabricant ; ils ont été envoyés une semaine avant l'étude.

Le laboratoire expert, l'ASEPT, a adressé aux laboratoires collaborateurs les instructions pour la réalisation des essais ainsi qu'un fichier Excel pour le rendu des résultats.

1.4.2.6 Vérification des paramètres expérimentaux

- Taux de contamination avant ensemencement, taux obtenus après contamination artificielle et stabilité des échantillons

Le laboratoire organisateur, l'ASEPT, a vérifié l'absence de *Listeria monocytogenes* dans les laits utilisés avant ensemencement.

Les niveaux de contamination sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8 - Niveaux de contamination des échantillons

Taux visés (bactéries / ml)	Echantillons N°	Taux réels (bactéries / ml)
0	1 - 8	0
50	5 - 6	45
500	3 - 7	440
5000	2 - 4	4 500

Le niveau de contamination par *Listeria monocytogenes* des échantillons a été mesuré le jour de préparation des laits par le laboratoire organisateur, et le lendemain de la préparation. Les résultats sont reportés dans le tableau 9.

Tableau 9 - Stabilité des échantillons

Jour	Niveau visé dans 1 ml	Résultat du dénombrement par la méthode ISO 11290-2/A1 dans 1 ml (UFC)	Résultat du dénombrement par la méthode ISO 11290-2/A1 dans 1 ml (log)
29/05/2006	50	45	1,65
	500	440	2,64
	5 000	4 500	3,65
30/05/2006	50	60	1,78
	500	430	2,63
	5 000	4 900	3,69

Les échantillons présentent des niveaux de contamination proches de ceux attendus et sont stables sur deux jours.

Température des échantillons à réception

Les températures obtenues par les laboratoires collaborateurs à réception du colis et les températures indiquées par le thermobouton sont présentées dans le tableau 10.

Tableau 10 – Température des échantillons à réception

Code du Laboratoire	Jour de réception	Heure de réception	Température à réception (°C) mesurée par le laboratoire	Températures (°C) indiquées par le thermobouton (mini-à réception)
A	30/05/2006	10h45	8,2	0,3
B		10h15	5,5	0,3
C		11h15	4,5	-1,3
D		10h00	6,3	0,3
E		09h30	6,0	0,4
F		8h30	6,2	-1,4
G		11h50	8,1	0,5
H		10h00	3,8	0,4
I		08h30	4,8	0,1
J		14h45	-	Thermobouton jeté
K		08h30	1,4	0,5
L		09h45	6,7	-1,3
M		08h45	7,6	0,4

Pour tous les laboratoires collaborateurs, la température était conforme car inférieure à 8,4 °C.

Tous les laboratoires ont reçu leur colis le lendemain de l'envoi soit le 30/05/2006 avant 14 h, à l'exception du laboratoire J qui a reçu le colis après 14 h et avec plusieurs flacons cassés et/ou fuités. Le laboratoire B a réalisé une pesée de chaque quantité de lait (inférieure à 10 ml) et a dilué cette quantité au 10^{ème} avec l'eau peptonée tamponnée.

Trois autres laboratoires ont reçu quelques flacons fuités mais ont tout de même réalisé les essais (laboratoire B, D et L).

Le laboratoire I a identifié en première intention des *Listeria ivanovii*.

Tous les laboratoires ont réalisé les essais sur les 8 flacons de lait le mardi 30/05/2006.

□ Conclusion

Le laboratoire J est exclu, car il n'a pas réalisé les analyses en raison des flacons cassés et/ou fuités. Les laboratoires B, D et L sont maintenus ; ils ont pu réaliser les essais en suivant le protocole.

1.4.2.7 Résultats des analyses

□ Dénombrement de la flore aérobie mésophile

Les laboratoires collaborateurs et le laboratoire organisateur ont effectué le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile selon la méthode ISO 4833. Les dénombrements varient entre $9,4 \cdot 10^2$ / ml et $3,3 \cdot 10^3$ / ml avec une moyenne de $1,8 \cdot 10^3$ / ml. Les laboratoires I et K n'ont pas transmis de résultats.

☐ Résultats obtenus par le laboratoire expert

Une synthèse des résultats obtenus est présentée ci-après.

Taux visé	Méthode de référence ISO 11290-2		Méthode alternative numération	
	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
< 10	< 10	< 10	< 10	<10
50	50 (Ne)	60 (Ne)	50 (Ne)	30 (Ne)
500	470	390	490	500
5 000	4 700	5 100	5 900	3 400

Les résultats obtenus sont conformes aux résultats attendus pour les trois niveaux contaminés.

☐ Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Les tableaux 11 à 14 présentent une synthèse des résultats obtenus pour les laits contaminés. En ce qui concerne le niveau non contaminé, tous les laboratoires ont trouvé les résultats attendus.

Tableau 11 – Résultats des laboratoires collaborateurs (niveau 1)

Laboratoire	Méthode de référence ISO 11290-2		Méthode alternative numération	
	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
A	40	40	70	40
B	40	15	40	20
C	50	20	20	70
D	40	60	40	40
E	50	40	50	20
F	60	20	60	50
G	70	35	120	50
H	110	40	100	90
I	35	30	40	< 10
K	50	20	10	210
L	35	60	20	40
M	45	45	30	40

Tableau 12 – Résultats des laboratoires collaborateurs (niveau 2)
(calculs réalisés en prenant en compte les résultats obtenus sur les trois boîtes inoculées avec la suspension mère)

Laboratoire	Méthode de référence ISO 11290-2		Méthode alternative numération	
	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
A	480	410	210	340
B	350	300	360	450
C	440	430	480	450
D	490	460	600	540
E	490	520	530	560
F	370	250	300	130
G	440	390	570	370
H	520	440	450	540
I	290	290	850	450
K	320	340	290	510
L	390	390	170	380
M	450	490	550	410

Tableau 13 – Résultats des laboratoires collaborateurs (niveau 2)
(calculs réalisés en prenant en compte les résultats obtenus sur la ou les boîtes inoculées avec 0,1 ml de la suspension mère)

Laboratoire	Méthode de référence ISO 11290-2		Méthode alternative numération	
	Réplicat 1	Réplicat 2	Réplicat 1	Réplicat 2
A	1000	300	400	300
B	350	650	800	600
C	300	650	300	500
D	250	450	600	1000
E	750	550	400	200
F	300	350	600	300
G	450	550	700	700
H	150	650	300	300
I	300	300	700	300
K	450	650	300	500
L	650	350	800	200
M	400	550	800	180

Tableau 14 – Résultats des laboratoires collaborateurs (niveau 3)

Laboratoire	Méthode de référence ISO 11290-2		Méthode alternative numération	
	Réplikat 1	Réplikat 2	Réplikat 1	Réplikat 2
A	4900	4600	4900	5100
B	4100	4700	5100	3700
C	4600	5400	4600	5000
D	4900	4900	4400	4600
E	5400	4500	4100	5400
F	4400	4700	4900	5900
G	5000	4500	4000	4400
H	4200	4700	5600	4800
I	3900	4400	3800	3400
K	3400	4200	600	4100
L	5300	4600	5600	5900
M	4900	4900	6400	4800

Trois laboratoires ont eu des difficultés à voir les halos après 24 h d'incubation sur les géloses *Brilliance Listeria* (laboratoires B, E et I), dont un laboratoire qui a eu des difficultés à voir les halos pour la méthode alternative et la méthode de référence (laboratoire B). Le laboratoire I a identifié en première intention *Listeria ivanovii* sur toutes les colonies au lieu de *Listeria monocytogenes* : après réalisation de galeries biochimiques d'identification d'une autre marque, les identifications étaient conformes.

Le laboratoire K n'a pas réalisé les confirmations sur gélose O&A par isolement des colonies typiques sur gélose *Brilliance Listeria*.

Deux laboratoires sont exclus de l'interprétation, les laboratoires I et K en raison du non respect du protocole et d'une valeur non exploitable (<10) pour le laboratoire I

Synthèse des résultats obtenus par les deux méthodes

Une synthèse des résultats est présentée dans les tableaux 15 et 16.

Tableau 15 - Synthèse des résultats obtenus par la méthode alternative et la méthode de référence (en UFC)

Laboratoires	Niveau 1				Niveau 2				Niveau 2 bis				Niveau 3			
	Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative	
A	40	40	70	40	480	410	210	340	1000	300	400	300	4900	4600	4900	5100
B	40	15	40	20	350	300	360	450	350	650	800	600	4100	4700	5100	3700
C	50	20	20	70	440	430	480	450	300	650	300	500	4600	5400	4600	5000
D	40	60	40	40	490	460	600	540	250	450	600	1000	4900	4900	4400	4600
E	50	40	50	20	490	520	530	560	750	550	400	200	5400	4500	4100	5400
F	60	20	60	50	370	250	300	130	300	350	600	300	4400	4700	4900	5900
G	70	35	120	50	440	390	570	370	450	550	700	700	5000	4500	4000	4400
H	110	40	100	90	520	440	450	540	150	650	300	300	4200	4700	5600	4800
L	35	60	20	40	390	390	170	380	650	350	800	200	5300	4600	5600	5900
M	45	45	30	40	450	490	550	410	400	550	800	180	4900	4900	6400	4800

Tableau 16 - Synthèse des résultats obtenus par la méthode alternative et la méthode de référence (en log UFC/g)

Laboratoires	Niveau 1				Niveau 2				Niveau 2 bis				Niveau 3			
	Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative		Méthode de référence		Méthode alternative	
A	1,602	1,602	1,845	1,602	2,681	2,613	2,322	2,531	3,000	2,477	2,602	2,477	3,690	3,663	3,690	3,708
B	1,602	1,176	1,602	1,301	2,544	2,477	2,556	2,653	2,544	2,813	2,903	2,778	3,613	3,672	3,708	3,568
C	1,699	1,301	1,301	1,845	2,643	2,633	2,681	2,653	2,477	2,813	2,477	2,699	3,663	3,732	3,663	3,699
D	1,602	1,778	1,602	1,602	2,690	2,663	2,778	2,732	2,398	2,653	2,778	3,000	3,690	3,690	3,643	3,663
E	1,699	1,602	1,699	1,301	2,690	2,716	2,724	2,748	2,875	2,740	2,602	2,301	3,732	3,653	3,613	3,732
F	1,778	1,301	1,778	1,699	2,568	2,398	2,477	2,114	2,477	2,544	2,778	2,477	3,643	3,672	3,690	3,771
G	1,845	1,544	2,079	1,699	2,643	2,591	2,756	2,568	2,653	2,740	2,845	2,845	3,699	3,653	3,602	3,643
H	2,041	1,602	2,000	1,954	2,716	2,643	2,653	2,732	2,176	2,813	2,477	2,477	3,623	3,672	3,748	3,681
L	1,544	1,778	1,301	1,602	2,591	2,591	2,230	2,580	2,813	2,544	2,903	2,301	3,724	3,663	3,748	3,771
M	1,653	1,653	1,477	1,602	2,653	2,690	2,740	2,613	2,602	2,740	2,903	2,255	3,690	3,690	3,806	3,681

Contrôle de la cohérence des résultats de mesure

Des graphiques de cohérence ont été appliqués pour identifier les résultats incohérents par rapport à l'ensemble des résultats : il s'agit des statistiques robustes h (cohérence interlaboratoire) et k de Mandel.

Les graphiques obtenus pour la méthode de référence et la méthode alternative sont donnés en annexe 2.

Le nombre de valeurs situées au-dessus des seuils pour h et K est donné dans le tableau ci-après :

Valeurs de Mandel	Nombre de valeurs observées au-dessus du seuil	
	Méthode de référence	Méthode alternative
h > 1 %	1 (3,3 %)	1 (3,3 %)
h > 5 %	2 (6,6 %)	3 (10 %)
k > 1 %	0	2 (6,6 %)
k > 5 %	1 (3,3 %)	3 (10 %)

() : Pourcentage de valeurs au-dessus du seuil

Les calculs statistiques indiquent d'étudier certains résultats pour validation de ces derniers ; les valeurs de dénombrements observées sont toutefois cohérentes entre la méthode de référence et la méthode alternative. **Tous les résultats ont donc été conservés pour l'analyse statistique.**

Les résultats statistiques sont donnés en annexe 3.

Comparaison des caractéristiques de justesse et de fidélité de la méthode de référence et de la méthode alternative

Les valeurs statistiques sont résumées ci-après

Niveau	p	Méthode de référence			Méthode alternative			Rapport répétabilité	Rapport reproductibilité	D(biais)	t
		médiane	Ecart-type de répétabilité	Ecart-type de reproductibilité	médiane	Ecart-type de répétabilité	Ecart-type de reproductibilité				
1	10	1,6519	0,2415	0,1982	1,6021	0,2045	0,2433	0,847	1,228	0,0678	1,14
2	10	2,6551	0,0543	0,0659	2,6719	0,0914	0,1325	1,682	2,011	0,0209	0,82
2 bis	10	2,6581	0,2607	0,2082	2,5951	0,1900	0,1953	0,729	0,938	-0,0372	0,35
3	10	1,8671	0,0103	0,0094	1,8671	0,0130	0,0206	1,265	2,186	1,6101	0,22

⇒ Biais de la méthode alternative

Afin d'estimer le biais de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence pour chaque niveau, D_{ij} et t sont calculés selon les équations suivantes :

$$D_{ij} = \bar{Y}_{ij, \text{Alt}} - \bar{Y}_{ij, \text{Ref}}$$

$$t = \frac{|\text{median } i (D_{ij})|}{\sqrt{\pi / (2 p) \varphi} \text{ Diff}}$$

Si la valeur de t est supérieure à 2, la méthode alternative est significativement biaisée par rapport à la méthode de référence.

Les valeurs obtenues sont données dans le tableau 17.

Tableau 17 – Valeurs de t obtenues par niveau

Niveau	t	Interprétation
1	1,14	Biais non significatif
2	0,82	Biais non significatif
2 bis	0,35	Biais non significatif
3	0,22	Biais non significatif

Le biais est non significatif quelque soit le niveau d'inoculation.

⇒ Comparaison des écarts-types de répétabilité

Si le rapport des écarts-types de répétabilité de la méthode alternative et de la méthode de référence est supérieur à 2, la fidélité dans les conditions de répétabilité de la méthode alternative est considérée inférieure à celle de la méthode de référence. Si ce rapport est inférieur à 0,5, la fidélité de la méthode alternative est considérée comme supérieure à celle de la méthode de référence.

Les valeurs de ces rapports sont données dans le tableau 18.

Tableau 18

Niveau	Ecart-type de répétabilité		
	Méthode de référence	Méthode alternative	Ratio méthode alternative / méthode de référence
1	0,2415	0,2045	0,847
2	0,0543	0,0914	1,682
2 bis	0,2607	0,1900	0,729
3	0,0103	0,0130	1,265

Niveau	Limite de répétabilité	
	Méthode de référence	Méthode alternative
1	0,6762	0,5726
2	0,1521	0,2558
2 bis	0,7301	0,5320
3	0,0287	0,0364

Les rapports des écarts-types de répétabilité sont inférieurs à 2 pour tous les niveaux. La fidélité dans les conditions de répétabilité de la méthode alternative est satisfaisante.

⇒ Comparaison des écarts-types de reproductibilité

Si le rapport des écarts-types de reproductibilité de la méthode alternative et de la méthode de référence est supérieur à 2, la fidélité dans les conditions de reproductibilité de la méthode alternative est considérée inférieure à celle de la méthode de référence. Si ce rapport est inférieur à 0,5, la fidélité de la méthode alternative est considérée comme supérieure à celle de la méthode de référence.

Les valeurs de ces rapports sont données dans le tableau 19.

Tableau 19

Niveau	Ecart-type de reproductibilité		
	Méthode de référence	Méthode alternative	Ratio méthode alternative / méthode de référence
1	0,1982	0,2433	1,228
2	0,0659	0,1325	2,011
2 bis	0,2082	0,1953	0,938
3	0,0094	0,0206	2,186

Niveau	Limite de reproductibilité	
	Méthode de référence	Méthode alternative
1	0,5549	0,6812
2	0,1845	0,3709
2 bis	0,5830	0,5469
3	0,0264	0,0576

Les rapports des écarts-types de reproductibilité sont inférieurs ou très proche de 2.

La fidélité dans les conditions de reproductibilité de la méthode alternative est équivalente à celle de la méthode de référence.

1.4.3 Conclusion

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

La méthode *Listeria* Precis™ pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* a été comparée à la méthode de référence NF EN ISO 11290-2/A1. Les résultats montrent :

- une linéarité et une exactitude relative satisfaisantes,
- la praticabilité de la méthode est similaire à celle de la méthode de référence, avec un nombre de boîtes à ensemercer divisé par deux et un nombre de colonies à confirmer plus faible.

Les conclusions de l'étude interlaboratoire sont les suivantes :

- le biais entre la méthode de référence et la méthode alternative est non significatif, quelque soit le niveau d'inoculation,
- la répétabilité et la reproductibilité de la méthode alternative sont satisfaisantes.

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

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

2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

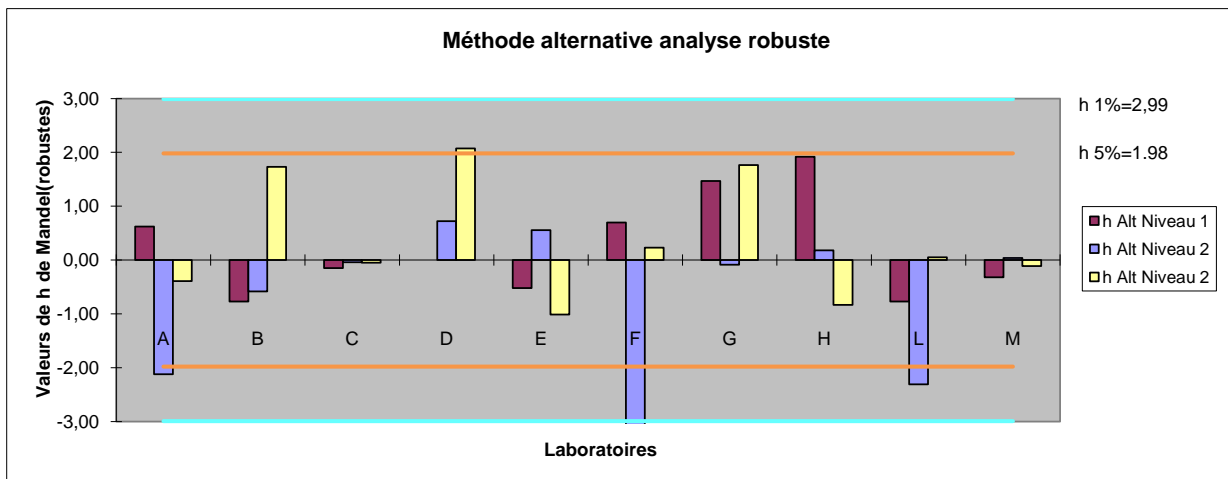
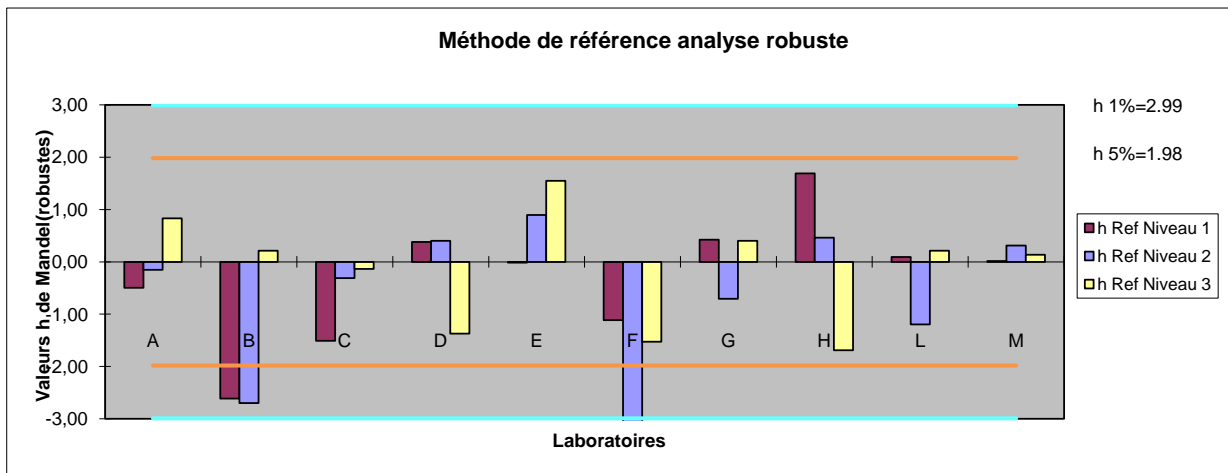
Une publication est référencée, parue depuis l'étude de validation en 2006 : Loncarevic *et al.*, 2008. *Int. J. Food Microbiol.* 124, 154-163. Cette publication rapporte les essais et résultats satisfaisants réalisés dans le cadre de la validation NMKL de la méthode *Listeria* Precis™ pour le dénombrement de *Listeria monocytogenes* dans les aliments.

Annexe 1 - Liste des laboratoires collaborateurs

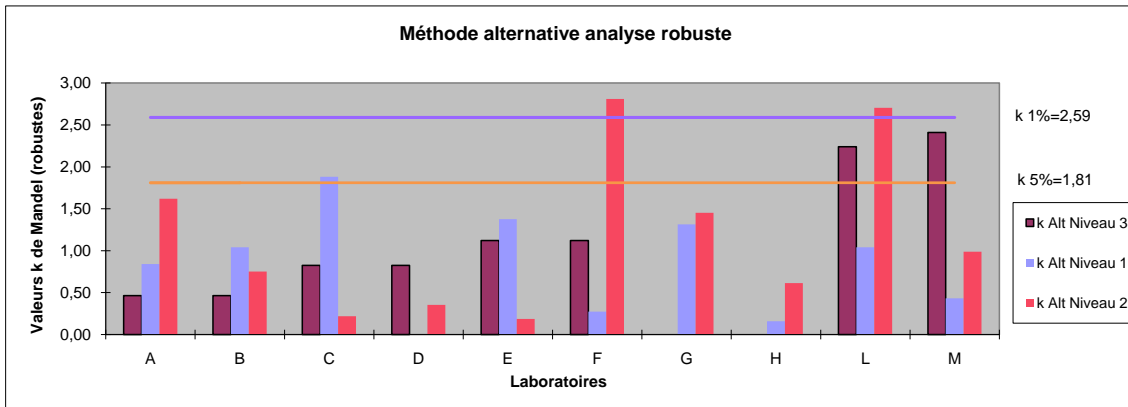
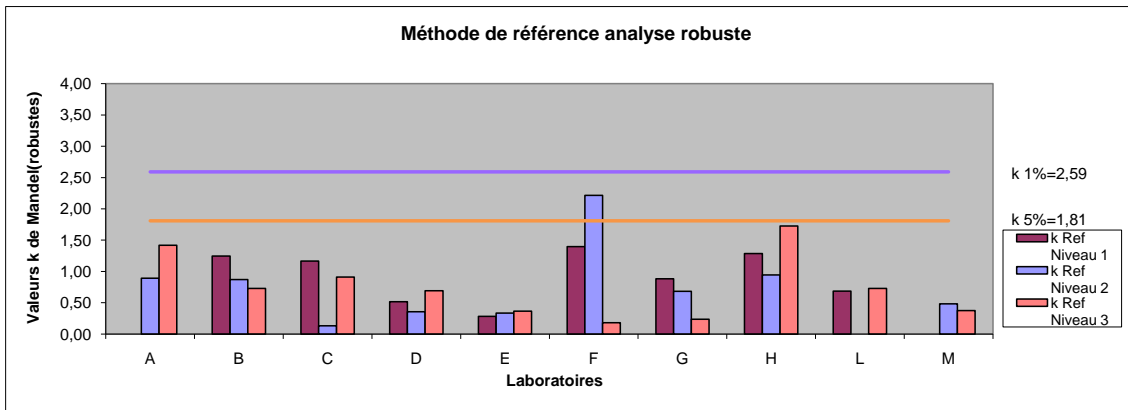
<p>LASA ZI De Montplaisir 79022 CHAMPDENIERS Mr Chevalier Tel : 05 49 25 31 10 Fax : 05 49 25 31 12 E mail : s.chevalier@cg79.fr</p>	<p>LDA 01 Plateforme Alimentec Rue Henri de Boissieu 01060 BOURG EN BRESSE CEDEX Mme Darbon Tel : 04 74 45 52 40 Fax : 04 74 45 52 41 E mail : arlette.darbon@cg01.fr</p>
<p>LCI Rue Chomaget BP 22 43100 BRIOUDE CEDEX Mme Cazalet Tel : 04 71 74 57 00 Fax : 04 71 74 57 16</p>	<p>C.E.S.A.R. 1 Rue Erman – Frankel 69364 LYON CEDEX 07 Mme Garoni Tel: 04 72 76 33 22 Fax : 04 37 28 05 66 E mail : cesar.lyon@free.fr</p>
<p>ISHA Labo de bactériologie Rue du chemin blanc BP 393 91169 LONGJUMEAU Mr Boubetra Tel : 01 64 48 52 10 Fax: 01 64 47 15 44</p>	<p>SOCIETE DES CAVES Laboratoire 12250 Roquefort S/ SOULZON Mr Reverbel Tel : 05 65 58 59 85 Fax : 05 65 59 97 44</p>
<p>INSTITUT PASTEUR DE LILLE SERMHA Domaine du Certia 369 Rue Jules Guesde B P 39 59651 VILLENEUVE D'ASQ CEDEX Mme EWE Tel :03 20 43 86 40 Fax :03 20 43 86 66</p>	<p>LIAL 15 38 rue de Salers 15 000 AURILLAC Mme Defargues Tel : 04 71 46 82 00 Fax :04 71 46 82 01</p>
<p>LABORATOIRE FRANCK DUNCOMBE 1 route de Rosel SAINT CONTEST 14053 CAEN CEDEX 4 Mme Dieuleveux Tel : 02 31 47 19 19 Fax : 02 31 47 19 00</p>	<p>NESTLE Allée du Promenoir BP 8418 CERGY ST CHRISTOPHE 95806 CERGY PONTOISE Mr Guillaume gentil Tel : 01 34 35 60 00 Fax : 01 34 35 60 22</p>
<p>Société LDC Route de la flèche 72300 SABLE SUR SARTHE Mme Guittet Tel : 02 43 62 70 00 Fax :02 43 92 52 29</p>	<p>LILANO Site Agorial 23 Rue Auguste Grandin 50008 SAINT LO CEDEX Melle Leverrier tel : 02 33 77 38 10 Fax : 02 33 77 38 19</p>

Annexe 2 – Graphiques de Mandel

Laboratoire	h Ref Niveau 1	h Ref Niveau 2	h Ref Niveau 3	h Alt Niveau 1	h Alt Niveau 2	h Alt Niveau 3	h5%	h1%	h5%	h1%
A	-0,50	-0,15	0,83	0,62	-2,12	-0,39	1,98	2,99	-1,98	-2,99
B	-2,61	-2,70	0,21	-0,77	-0,58	1,73	1,98	2,99	-1,98	-2,99
C	-1,51	-0,31	-0,14	-0,15	-0,04	-0,05	1,98	2,99	-1,98	-2,99
D	0,38	0,40	-1,37	0,00	0,72	2,07	1,98	2,99	-1,98	-2,99
E	-0,01	0,90	1,55	-0,52	0,56	-1,01	1,98	2,99	-1,98	-2,99
F	-1,12	-3,21	-1,53	0,70	-3,25	0,23	1,98	2,99	-1,98	-2,99
G	0,42	-0,71	0,40	1,47	-0,09	1,76	1,98	2,99	-1,98	-2,99
H	1,69	0,46	-1,69	1,92	0,18	-0,83	1,98	2,99	-1,98	-2,99
L	0,09	-1,20	0,21	-0,77	-2,31	0,05	1,98	2,99	-1,98	-2,99
M	0,01	0,31	0,14	-0,32	0,04	-0,11	1,98	2,99	-1,98	-2,99



Laboratoire	k Ref Niveau 1	k Ref Niveau 2	k Ref Niveau 3	k Alt Niveau 1	k Alt Niveau 2	k Alt Niveau 3	k1%	k5%
A	0,00	0,89	1,42	0,84	1,62	0,46	2,59	1,81
B	1,25	0,87	0,73	1,04	0,75	0,46	2,59	1,81
C	1,17	0,13	0,91	1,88	0,22	0,83	2,59	1,81
D	0,52	0,36	0,69	0,00	0,35	0,83	2,59	1,81
E	0,28	0,34	0,37	1,38	0,19	1,12	2,59	1,81
F	1,40	2,22	0,18	0,27	2,81	1,12	2,59	1,81
G	0,88	0,68	0,24	1,31	1,45	0,00	2,59	1,81
H	1,29	0,94	1,73	0,16	0,61	0,00	2,59	1,81
L	0,69	0,00	0,73	1,04	2,70	2,24	2,59	1,81
M	0,00	0,48	0,38	0,43	0,99	2,41	2,59	1,81



Annexe 3 – Résultats statistiques

Niveau 1

Nombre de laboratoires (p) 10

Laboratoires	Niveau 1		Moyenne	si	Deviation		h	k
	Ref							
A	1,602	1,602	1,602	0,00	0,000	0,000	-0,495	0,000
B	1,602	1,176	1,389	0,30	0,213	-0,213	-2,613	1,247
C	1,699	1,301	1,500	0,28	0,199	-0,199	-1,510	1,165
D	1,602	1,778	1,690	0,12	-0,088	0,088	0,380	0,516
E	1,699	1,602	1,651	0,07	0,048	-0,048	-0,013	0,284
F	1,778	1,301	1,540	0,34	0,239	-0,239	-1,116	1,397
G	1,845	1,544	1,695	0,21	0,151	-0,151	0,425	0,881
H	2,041	1,602	1,822	0,31	0,220	-0,220	1,689	1,286
L	1,544	1,778	1,661	0,17	-0,117	0,117	0,092	0,685
M	1,653	1,653	1,653	0,00	0,000	0,000	0,013	0,000

m	1,65186
Cn(2p)	1,867
Cn(p)	1,6101
n=2*p	
n	20
f	11
l	55

n=p	
n	10
f	6
l	15
Qn(2p)	0,09146534
Qn(p)	0,06246937
Qintra	0,17078
Qinter	0,10058

Sr(écart-type de répétab	0,2415
RSDr(coefficient de varia	14,62%
r(repeatability limit)	0,676

SL(écart-type interlabora	-0,01905
SR(écart-type de reprod	0,1982
RSDR(coefficient de vari	0,120
R(limite de reproductibilité	0,55494981

Laboratoires	Niveau 1		Moyenne	si	Deviation		h	k	D
	Alt								
A	1,845	1,602	1,724	0,17	0,122	-0,122	0,621	0,840	0,122
B	1,602	1,301	1,452	0,21	0,151	-0,151	-0,769	1,041	0,062
C	1,301	1,845	1,573	0,38	-0,272	0,272	-0,148	1,881	0,073
D	1,602	1,602	1,602	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	-0,088
E	1,699	1,301	1,500	0,28	0,199	-0,199	-0,522	1,376	-0,151
F	1,778	1,699	1,739	0,06	0,040	-0,040	0,698	0,274	0,199
G	2,079	1,699	1,889	0,27	0,190	-0,190	1,467	1,315	0,194
H	2,000	1,954	1,977	0,03	0,023	-0,023	1,917	0,158	0,155
L	1,301	1,602	1,452	0,21	-0,151	0,151	-0,769	1,041	-0,210
M	1,477	1,602	1,540	0,09	-0,062	0,062	-0,319	0,432	-0,114

m	1,60206	mediane D	0,0678
Cn(2p)	1,867	Cp	1,6101
Cn(p)	1,6101	Qn(D)	0,092926
n=2*p		Qdiff	0,149616866
n	20	t	1,14
f	11		
l	55		

n=p	
n	10
f	6
l	15
Qn(2p)	0,077451
Qn(p)	0,121519
Qintra	0,14461
Qinter	0,19565

Sr	0,2045
RSDr	12,77%
r	0,573

SL	0,01737
SR	0,2433
RSDR	0,152
R(limite de reproductibilité	0,6812309

Différences absolues référence (ufc)

	0,0000	0,2130	0,1990	-0,0880	0,0485	0,2386	0,1505	0,2197	-0,1170	0,0000	0,0000	-0,2130	-0,1990	0,0880	-0,0485	-0,2386	-0,1505	-0,2197
0,0000		0,212984	0,198970	0,088046	0,048455	0,238561	0,150515	0,219666	0,117042	0,000000	0,000000	0,212984	0,198970	0,088046	0,048455	0,238561	0,150515	0,219666
0,2130			0,014014	0,301030	0,164529	0,025576	0,062469	0,006682	0,330026	0,212984	0,212984	0,425969	0,411954	0,124939	0,261439	0,451545	0,363499	0,432651
0,1990				0,287016	0,150515	0,039591	0,048455	0,020696	0,316012	0,198970	0,198970	0,411954	0,397940	0,110924	0,247425	0,437531	0,349485	0,418636
-0,0880					0,136501	0,326606	0,238561	0,307712	0,028996	0,088046	0,088046	0,124939	0,110924	0,176091	0,039591	0,150515	0,062469	0,131621
0,0485						0,190106	0,102060	0,171211	0,165497	0,048455	0,048455	0,261439	0,247425	0,039591	0,096910	0,287016	0,198970	0,268121
0,2386							0,088046	0,018894	0,355602	0,238561	0,238561	0,451545	0,437531	0,150515	0,287016	0,477121	0,389076	0,458227
0,1505								0,069151	0,267557	0,150515	0,150515	0,363499	0,349485	0,062469	0,198970	0,389076	0,301030	0,370181
0,2197										0,336708	0,219666	0,219666	0,432651	0,418636	0,131621	0,268121	0,458227	0,370181
-0,1170											0,117042	0,117042	0,095943	0,081928	0,205087	0,068587	0,121519	0,033473
0,0000												0,000000	0,212984	0,198970	0,088046	0,048455	0,238561	0,150515
-0,1215													0,091465	0,077451	0,209565	0,073064	0,117042	0,028996
-0,1505														0,048455	0,238561	0,102060	0,088046	0,000000
-0,1990															0,287016	0,150515	0,039591	0,048455
0,0880																0,136501	0,326606	0,238561
-0,0485																	0,190106	0,102060
-0,2386																		0,088046
-0,1505																		
-0,2197																		
0,1170																		
0,0000																		

Différences absolues alternative(ufc)

	0,1215	0,1505	-0,2720	0,0000	0,1990	0,0396	0,1901	0,0229	-0,1505	-0,0625	-0,1215	-0,1505	0,2720	0,0000	-0,1990	-0,0396	-0,1901	-0,0229
0,1215		0,091465	0,077451	0,209565	0,073064	0,117042	0,028996	0,098147	0,238561	0,121519	0,121519	0,334503	0,320489	0,033473	0,169974	0,360080	0,272034	0,341185
0,1505			0,048455	0,238561	0,102060	0,088046	0,000000	0,069151	0,267557	0,150515	0,150515	0,363499	0,349485	0,062469	0,198970	0,389076	0,301030	0,370181
-0,2720				0,183988	0,320489	0,510595	0,422549	0,491700	0,154992	0,272034	0,272034	0,059050	0,073064	0,360080	0,223579	0,033473	0,121519	0,052368
0,0000					0,048455	0,238561	0,150515	0,219666	0,117042	0,000000	0,000000	0,212984	0,198970	0,088046	0,048455	0,238561	0,150515	0,219666
0,1990						0,039591	0,048455	0,020696	0,316012	0,198970	0,198970	0,411954	0,397940	0,110924	0,247425	0,437531	0,349485	0,418636
0,0396							0,110924	0,180076	0,156632	0,039591	0,039591	0,252575	0,238561	0,048455	0,088046	0,278151	0,190106	0,259257
0,1901								0,029561	0,307147	0,190106	0,190106	0,403090	0,389076	0,102060	0,238561	0,428666	0,340621	0,409772
0,0229										0,139920	0,022879	0,022879	0,235863	0,221849	0,065167	0,071334	0,261439	0,173394
-0,1505											0,150515	0,150515	0,062469	0,048455	0,238561	0,102060	0,088046	0,000000
-0,0625												0,062469	0,150515	0,136501	0,150515	0,014014	0,176091	0,088046
-0,1215													0,091465	0,077451	0,209565	0,073064	0,117042	0,028996
-0,1505														0,048455	0,238561	0,102060	0,088046	0,000000
0,2720															0,183988	0,320489	0,510595	0,422549
0,0000																0,048455	0,238561	0,150515
-0,1990																	0,039591	0,048455
-0,0396																		0,110924
-0,1901																		
-0,0229																		
0,1505																		
0,0625																		

Différences absolues référence (moyennes)

	1,602	1,389	1,500	1,690	1,651	1,540	1,695	1,822	1,661	1,653
1,602		0,212984	0,102060	0,088046	0,048455	0,062469	0,092523	0,219666	0,059050	0,051153
1,389			0,110924	0,301030	0,261439	0,150515	0,305507	0,432651	0,272034	0,264137
1,500				0,190106	0,150515	0,039591	0,194583	0,321726	0,161110	0,153213
1,690					0,039591	0,150515	0,004477	0,131621	0,028996	0,036893
1,651						0,110924	0,044068	0,171211	0,010595	0,002698
1,540							0,154992	0,282136	0,121519	0,113622
1,695								0,127143	0,033473	0,041371
1,822									0,160617	0,168514
1,661										0,007897
1,653										

Différences absolues alternative (moyennes)

	1,724	1,452	1,573	1,602	1,500	1,739	1,889	1,977	1,452	1,540
1,724		0,272034	0,150515	0,121519	0,223579	0,014982	0,165497	0,253542	0,272034	0,183988
1,452			0,121519	0,150515	0,048455	0,287016	0,437531	0,525576	0,000000	0,088046
1,573				0,028996	0,073064	0,165497	0,316012	0,404057	0,121519	0,033473
1,602					0,102060	0,136501	0,287016	0,375061	0,150515	0,062469
1,500						0,238561	0,389076	0,477121	0,048455	0,039591
1,739							0,150515	0,238561	0,287016	0,198970
1,889								0,088046	0,437531	0,349485
1,977									0,525576	0,437531
1,452										0,088046
1,540										

Différences absolues (Différences D)

	0,122	0,062	0,073	-0,088	-0,151	0,199	0,194	0,155	-0,210	-0,114
0,122		0,059050	0,048455	0,209565	0,272034	0,077451	0,072974	0,033876	0,331084	0,235141
0,062			0,010595	0,150515	0,212984	0,136501	0,132023	0,092926	0,272034	0,176091
0,073				0,161110	0,223579	0,125906	0,121429	0,082331	0,282629	0,186686
-0,088					0,062469	0,287016	0,282538	0,243441	0,121519	0,025576
-0,151						0,349485	0,345008	0,305910	0,059050	0,036893
0,199							0,004477	0,043575	0,408535	0,312592
0,194								0,039098	0,404057	0,308114
0,155									0,364960	0,269017
-0,210										0,095943
-0,114										

Niveau 2

Nombre de laboratoires (p)

10

Laboratoires	Niveau 2		Moyenne	si	Deviation		h	k
	Ref							
A	2,681	2,613	2,647	0,05	0,034	-0,034	-0,151	0,891
B	2,544	2,477	2,511	0,05	0,033	-0,033	-2,699	0,872
C	2,643	2,633	2,638	0,01	0,005	-0,005	-0,311	0,130
D	2,690	2,663	2,676	0,02	0,014	-0,014	0,400	0,357
E	2,690	2,716	2,703	0,02	-0,013	0,013	0,897	0,336
F	2,568	2,398	2,483	0,12	0,085	-0,085	-3,214	2,217
G	2,643	2,591	2,617	0,04	0,026	-0,026	-0,707	0,682
H	2,716	2,643	2,680	0,05	0,036	-0,036	0,460	0,945
L	2,591	2,591	2,591	0,00	0,000	0,000	-1,196	0,000
M	2,653	2,690	2,672	0,03	-0,018	0,018	0,311	0,481

m	2,655082431	
Cn(2p)	1,867	
Cn(p)	1,6101	
n=2*p	n	20
f	11	
l	55	
n=p	n	10
f	6	
l	15	
Qn(2p)	0,020570	
Qn(p)	0,0332437	
Qintra	0,03841	
Qinter	0,05352	
Sr(écart-ty pe de répétabilité)	0,0543	
RSDr(coefficient de variation de la répétabilité)	2,05%	
r(repeatability limit)	0,152	
SL(écart-ty pe interlaboratoire)	0,00139	
SR(écart-ty pe de reproductibilité)	0,0659	
RSDR(coefficient de variation de la reproductibilité)	0,025	
R(limite de reproductibilité)	0,184459857	

Laboratoires	Niveau 2		Moyenne	si	Deviation		h	k	D
	Alt								
A	2,322	2,531	2,427	0,15	-0,105	0,105	-2,119	1,620	-0,220
B	2,556	2,653	2,605	0,07	-0,048	0,048	-0,581	0,750	0,094
C	2,681	2,653	2,667	0,02	0,014	-0,014	-0,040	0,217	0,029
D	2,778	2,732	2,755	0,03	0,023	-0,023	0,721	0,354	0,079
E	2,724	2,748	2,736	0,02	-0,012	0,012	0,556	0,185	0,033
F	2,477	2,114	2,296	0,26	0,182	-0,182	-3,255	2,811	-0,188
G	2,756	2,568	2,662	0,13	0,094	-0,094	-0,085	1,453	0,045
H	2,653	2,732	2,693	0,06	-0,040	0,040	0,181	0,613	0,013
L	2,230	2,580	2,405	0,25	-0,175	0,175	-2,307	2,704	-0,186
M	2,740	2,613	2,677	0,09	0,064	-0,064	0,040	0,987	0,005

m	2,671900074	mediane D	0,0209	
Cn(2p)	1,867	Cp	1,6101	
Cn(p)	1,6101	Qn(D)	0,039911	
n=2*p	n	20	Qdiff	0,064259074
f	11	t	0,82	
l	55			
n=p	n	10		
f	6			
l	15			
Qn(2p)	0,034598513			
Qn(p)	0,0718158			
Qintra	0,06460			
Qinter	0,11563			
Sr	0,0914			
RSDr	3,42%			
r	0,256			
SL	0,00920			
SR	0,1325			
RSDR	0,050			
R(limite de reproductibilité)	0,370861848			

Différences absolues référence (ufc)

	0,0342	0,0335	0,0050	0,0137	-0,0129	0,0851	0,0262	0,0363	0,0000	-0,0185	-0,0342	-0,0335	-0,0050	-0,0137	0,0129	-0,0851	-0,0262
0,0342		0,000755	0,029237	0,020510	0,047132	0,050902	0,008035	0,002047	0,034229	0,052720	0,068457	0,067702	0,039221	0,047948	0,021325	0,119360	0,060423
0,0335			0,028481	0,019754	0,046377	0,051657	0,007279	0,002802	0,033473	0,051965	0,067702	0,066947	0,038466	0,047193	0,020570	0,118604	0,059667
0,0050				0,008727	0,017896	0,080139	0,021202	0,031283	0,004992	0,023484	0,039221	0,038466	0,009984	0,018711	0,007912	0,090123	0,031186
0,0137					0,026623	0,071412	0,012475	0,022556	0,013719	0,032211	0,047948	0,047193	0,018711	0,027438	0,000815	0,098850	0,039913
-0,0129						0,098034	0,039098	0,049179	0,012904	0,005588	0,021325	0,020570	0,007912	0,000815	0,025807	0,072227	0,013290
0,0851							0,058937	0,048856	0,085131	0,103623	0,119360	0,118604	0,090123	0,098850	0,072227	0,170262	0,111325
0,0262								0,010081	0,026194	0,044686	0,060423	0,059667	0,031186	0,039913	0,013290	0,111325	0,052388
0,0363									0,036275	0,054767	0,070504	0,069749	0,041267	0,049994	0,023372	0,121406	0,062469
0,0000										0,018492	0,034229	0,033473	0,004992	0,013719	0,012904	0,085131	0,026194
-0,0185											0,015737	0,014982	0,013500	0,004773	0,031395	0,066639	0,007702
0,1046												0,138103	0,109622	0,118349	0,091726	0,189761	0,130824
0,0485													0,053447	0,062174	0,035551	0,133586	0,074649
-0,0050														0,008727	0,017896	0,080139	0,021202
-0,0137															0,026623	0,071412	0,012475
0,0129																0,098034	0,039098
-0,0851																	0,058937
-0,0262																	
-0,0363																	
0,0000																	
0,0185																	

Différences absolues alternative(ufc)

	-0,1046	-0,0485	0,0140	0,0229	-0,0120	0,1816	0,0938	-0,0396	-0,1747	0,0638	0,1046	0,0485	-0,0140	-0,0229	0,0120	-0,1816	-0,0938
-0,1046		0,138103	0,109622	0,118349	0,091726	0,189761	0,130824	0,140905	0,104630	0,086138	0,070401	0,071156	0,099638	0,090911	0,117533	0,019499	0,078436
-0,0485			0,053447	0,062174	0,035551	0,133586	0,074649	0,084730	0,048455	0,029963	0,014226	0,014982	0,043463	0,034736	0,061359	0,036676	0,022261
0,0140				0,000295	0,026918	0,071116	0,012180	0,022261	0,014014	0,032506	0,048243	0,047488	0,019006	0,027733	0,001111	0,099145	0,040208
0,0229					0,035782	0,062252	0,003315	0,013397	0,022879	0,041371	0,057107	0,056352	0,027871	0,036598	0,009975	0,108010	0,049073
-0,0120						0,097087	0,038150	0,048231	0,011956	0,006536	0,022273	0,021517	0,006964	0,001763	0,024860	0,073175	0,014238
0,1816							0,155395	0,145314	0,181589	0,200081	0,215818	0,215062	0,186581	0,195308	0,168685	0,266720	0,207783
0,0938								0,057561	0,093837	0,112328	0,128065	0,127310	0,098829	0,107556	0,080933	0,178967	0,120031
-0,0396									0,039591	0,021099	0,005362	0,006117	0,034599	0,025871	0,052494	0,045540	0,013397
-0,1747										0,156176	0,140439	0,141194	0,169675	0,160948	0,187571	0,089536	0,148473
0,0638											0,098018	0,097263	0,068782	0,077509	0,050886	0,148920	0,089983
0,1046												0,138103	0,109622	0,118349	0,091726	0,189761	0,130824
0,0485													0,053447	0,062174	0,035551	0,133586	0,074649
-0,0140														0,000295	0,026918	0,071116	0,012180
-0,0229															0,035782	0,062252	0,003315
0,0120																0,097087	0,038150
-0,1816																	0,155395
-0,0938																	
0,0396																	
0,1747																	
-0,0638																	

Différences absolues référence (moyennes)

	2,647	2,511	2,638	2,676	2,703	2,483	2,617	2,680	2,591	2,672
2,647		0,136418	0,008552	0,029464	0,056087	0,163942	0,029754	0,032715	0,055948	0,024692
2,511			0,127866	0,165882	0,192505	0,027524	0,106664	0,169133	0,080470	0,161110
2,638				0,038016	0,064639	0,155390	0,021202	0,041267	0,047396	0,033244
2,676					0,026623	0,193406	0,059218	0,003251	0,085412	0,004773
2,703						0,220029	0,085841	0,023372	0,112035	0,031395
2,483							0,134188	0,196657	0,107994	0,188633
2,617								0,062469	0,026194	0,054446
2,680									0,088663	0,008024
2,591										0,080640
2,672										

Différences absolues alternative (moyennes)

	2,427	2,605	2,667	2,755	2,736	2,296	2,662	2,693	2,405	2,677
2,427		0,177908	0,240378	0,328423	0,309383	0,131317	0,235189	0,265954	0,021733	0,249724
2,605			0,062469	0,150515	0,131474	0,309225	0,057281	0,088046	0,199641	0,071816
2,667				0,088046	0,069005	0,371695	0,005189	0,025576	0,262111	0,009346
2,755					0,019041	0,459740	0,093234	0,062469	0,350156	0,078699
2,736						0,440700	0,074194	0,043429	0,331116	0,059659
2,296							0,366506	0,397271	0,109584	0,381041
2,662								0,030765	0,256922	0,014535
2,693									0,287687	0,016230
2,405										0,271457
2,677										

Différences absolues (Différences D)

	-0,220	0,094	0,029	0,079	0,033	-0,188	0,045	0,013	-0,186	0,005
-0,220		0,314326	0,248930	0,298959	0,253296	0,032625	0,264943	0,233239	0,034215	0,225032
0,094			0,065397	0,015367	0,061031	0,281701	0,049383	0,081088	0,280111	0,089294
0,029				0,050029	0,004366	0,216305	0,016013	0,015691	0,214715	0,023897
0,079					0,045663	0,266334	0,034016	0,065720	0,264744	0,073927
0,033						0,220671	0,011647	0,020057	0,219081	0,028263
-0,188							0,232318	0,200614	0,001590	0,192408
0,045								0,031705	0,230728	0,039911
0,013									0,199023	0,008206
-0,186										0,190817
0,005										

Niveau 2 bis

Nombre de laboratoires (p)

10

Laboratoires	Niveau 3		Moyenne	si	Deviation		h	k
	Ref							
A	3,000	2,477	2,739	0,37	0,261	-0,261	0,832	1,418
B	2,544	2,813	2,678	0,19	-0,134	0,134	0,211	0,729
C	2,477	2,813	2,645	0,24	-0,168	0,168	-0,135	0,911
D	2,398	2,653	2,526	0,18	-0,128	0,128	-1,370	0,692
E	2,875	2,740	2,808	0,10	0,067	-0,067	1,547	0,365
F	2,477	2,544	2,511	0,05	-0,033	0,033	-1,525	0,182
G	2,653	2,740	2,697	0,06	-0,044	0,044	0,400	0,236
H	2,176	2,813	2,495	0,45	-0,318	0,318	-1,692	1,727
L	2,813	2,544	2,678	0,19	0,134	-0,134	0,211	0,729
M	2,602	2,740	2,671	0,10	-0,069	0,069	0,135	0,375

m	2,65811432
Cn(2p)	1,867
Cn(p)	1,6101
n=2*p	
n	20
f	11
l	55

n=p	
n	10
f	6
l	15
Qn(2p)	0,0987447
Qn(p)	0,06006993
Qintra	0,18437
Qinter	0,09672

Sr(écart-type de répétabilité) 0,2607

RSDr(coefficient
de variation
de la répétabilité) 9,81%
r(repeatability limit) 0,730

SL(écart-type interlaboratoire) -0,02464
SR(écart-type de reproductibilité) 0,2082
RSDR(coefficient de variatio) 0,078
R(limite de reproductibilité) 0,58295592

Laboratoires	Niveau 3		Moyenne	si	Deviation		h	k	D
	Alt								
A	2,602	2,477	2,540	0,09	0,062	-0,062	-0,391	0,465	-0,199
B	2,903	2,778	2,841	0,09	0,062	-0,062	1,732	0,465	0,162
C	2,477	2,699	2,588	0,16	-0,111	0,111	-0,049	0,826	-0,057
D	2,778	3,000	2,889	0,16	-0,111	0,111	2,074	0,826	0,363
E	2,602	2,301	2,452	0,21	0,151	-0,151	-1,012	1,120	-0,356
F	2,778	2,477	2,628	0,21	0,151	-0,151	0,230	1,120	0,117
G	2,845	2,845	2,845	0,00	0,000	0,000	1,764	0,000	0,148
H	2,477	2,477	2,477	0,00	0,000	0,000	-0,832	0,000	-0,017
L	2,903	2,301	2,602	0,43	0,301	-0,301	0,049	2,241	-0,076
M	2,903	2,255	2,579	0,46	0,324	-0,324	-0,112	2,411	-0,092

m	2,5950528	mediane D	-0,0372
Cn(2p)	1,867	Cp	1,6101
Cn(p)	1,6101	Qn(D)	0,16569149
n=2*p		Qdiff	0,26677531
n	20	t	0,35
f	11		
l	55		

n=p	
n	10
f	6
l	15
Qn(2p)	0,0719533
Qn(p)	0,0880456
Qintra	0,13435
Qinter	0,14176

Sr 0,1900

RSDr 7,32%
r 0,532

SL 0,00205
SR 0,1953
RSDR 0,075
R(limite de reproductibilité) 0,5468608

Différences absolues référence (ufc)

	0,2614	-0,1344	-0,1679	-0,1276	0,0673	-0,0335	-0,0436	-0,3184	0,1344	-0,0692	-0,2614	0,1344	0,1679	0,1276	-0,0673	0,0335	0,0436
0,2614		0,395862	0,429335	0,389076	0,194090	0,294913	0,305014	0,579850	0,127017	0,330591	0,522879	0,127017	0,093543	0,133803	0,328789	0,227966	0,217864
-0,1344			0,033473	0,006786	0,201772	0,100949	0,090848	0,183988	0,268845	0,065271	0,127017	0,268845	0,302319	0,262059	0,067073	0,167896	0,177998
-0,1679				0,040260	0,235245	0,134423	0,124321	0,150515	0,302319	0,098745	0,093543	0,302319	0,335792	0,295532	0,100547	0,201369	0,211471
-0,1276					0,194986	0,094163	0,084061	0,190775	0,262059	0,058485	0,133803	0,262059	0,295532	0,255273	0,060287	0,161110	0,171211
0,0673						0,100823	0,110924	0,385760	0,067073	0,136501	0,328789	0,067073	0,100547	0,060287	0,134699	0,033876	0,023774
-0,0335							0,010102	0,284938	0,167896	0,035678	0,227966	0,167896	0,201369	0,161110	0,033876	0,066947	0,077048
-0,0436								0,274836	0,177998	0,025576	0,217864	0,177998	0,211471	0,171211	0,023774	0,077048	0,087150
-0,3184									0,452834	0,249260	0,056972	0,452834	0,486307	0,446047	0,251062	0,351884	0,361986
0,1344										0,203574	0,395862	0,000000	0,033473	0,006786	0,201772	0,100949	0,090848
-0,0692											0,192288	0,203574	0,237047	0,196788	0,001802	0,102625	0,112726
-0,0625												0,196892	0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044
-0,0625													0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044
0,1679														0,040260	0,235245	0,134423	0,124321
0,1276															0,194986	0,094163	0,084061
-0,0673																0,100823	0,110924
0,0335																	0,010102
0,0436																	
0,3184																	
-0,1344																	
0,0692																	

Différences absolues alternative(ufc)

	0,0625	0,0625	-0,1109	-0,1109	0,1505	0,1505	0,0000	0,0000	0,3010	0,3239	-0,0625	-0,0625	0,1109	0,1109	-0,1505	-0,1505	0,0000
0,0625		0,196892	0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044	0,380880	0,071953	0,131621	0,323909	0,071953	0,105427	0,065167	0,129819	0,028996	0,018894
0,0625			0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044	0,380880	0,071953	0,131621	0,323909	0,071953	0,105427	0,065167	0,129819	0,028996	0,018894
-0,1109				0,016712	0,178274	0,077451	0,067349	0,207487	0,245347	0,041773	0,150515	0,245347	0,278820	0,238561	0,043575	0,144398	0,154499
-0,1109					0,178274	0,077451	0,067349	0,207487	0,245347	0,041773	0,150515	0,245347	0,278820	0,238561	0,043575	0,144398	0,154499
0,1505						0,183988	0,194090	0,468926	0,016092	0,219666	0,411954	0,016092	0,017381	0,022879	0,217864	0,117042	0,106940
0,1505							0,194090	0,468926	0,016092	0,219666	0,411954	0,016092	0,017381	0,022879	0,217864	0,117042	0,106940
0,0000								0,318411	0,134423	0,069151	0,261439	0,134423	0,167896	0,127636	0,067349	0,033473	0,043575
0,0000									0,134423	0,069151	0,261439	0,134423	0,167896	0,127636	0,067349	0,033473	0,043575
0,3010										0,370181	0,562469	0,166607	0,133134	0,173394	0,368379	0,267557	0,257455
0,3239											0,585348	0,189486	0,156013	0,196272	0,391258	0,290435	0,280334
-0,0625												0,196892	0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044
-0,0625													0,230365	0,190106	0,004880	0,095943	0,106044
0,1109														0,016712	0,178274	0,077451	0,067349
0,1109															0,178274	0,077451	0,067349
-0,1505																0,183988	0,194090
-0,1505																	0,194090
0,0000																	
0,0000																	
-0,3010																	
-0,3239																	

Différences absolues référence (moyennes)

	2,739	2,678	2,645	2,526	2,808	2,511	2,697	2,495	2,678	2,671
2,739		0,060070	0,093543	0,212984	0,069151	0,227966	0,041773	0,244058	0,060070	0,067349
2,678			0,033473	0,152914	0,129221	0,167896	0,018297	0,183988	0,000000	0,007279
2,645				0,119441	0,162695	0,134423	0,051770	0,150515	0,033473	0,026194
2,526					0,282136	0,014982	0,171211	0,031074	0,152914	0,145635
2,808						0,297117	0,110924	0,313210	0,129221	0,136501
2,511							0,186193	0,016092	0,167896	0,160617
2,697								0,202285	0,018297	0,025576
2,495									0,183988	0,176709
2,678										0,007279
2,671										

Différences absolues alternative (moyennes)

	2,540	2,841	2,588	2,889	2,452	2,628	2,845	2,477	2,602	2,579
2,540		0,301030	0,048455	0,349485	0,088046	0,088046	0,305507	0,062469	0,062469	0,039591
2,841			0,252575	0,048455	0,389076	0,212984	0,004477	0,363499	0,238561	0,261439
2,588				0,301030	0,136501	0,039591	0,257052	0,110924	0,014014	0,008864
2,889					0,437531	0,261439	0,043978	0,411954	0,287016	0,309894
2,452						0,176091	0,393553	0,025576	0,150515	0,127636
2,628							0,217462	0,150515	0,025576	0,048455
2,845								0,367977	0,243038	0,265917
2,477									0,124939	0,102060
2,602										0,022879
2,579										

Différences absolues (Différences D)

	-0,199	0,162	-0,057	0,363	-0,356	0,117	0,148	-0,017	-0,076	-0,092
-0,199		0,361100	0,141998	0,562469	0,157197	0,316012	0,347280	0,181589	0,122539	0,106940
0,162			0,219102	0,201369	0,518297	0,045088	0,013819	0,179511	0,238561	0,254160
-0,057				0,420471	0,299195	0,174013	0,205282	0,039591	0,019459	0,035058
0,363					0,719666	0,246458	0,215189	0,380880	0,439930	0,455529
-0,356						0,473209	0,504477	0,338786	0,279736	0,264137
0,117							0,031269	0,134423	0,193472	0,209072
0,148								0,165691	0,224741	0,240341
-0,017									0,059050	0,074649
-0,076										0,015599
-0,092										

Niveau 3

Nombre de laboratoires (p)

10

Laboratoires	Niveau 1		Moyenne	si	Deviation		h	k
	Ref							
A	3,690	3,663	3,676	0,02	0,014	-0,014	-0,311	0,513
B	3,613	3,672	3,642	0,04	-0,030	0,030	-1,851	1,109
C	3,663	3,732	3,698	0,05	-0,035	0,035	0,645	1,302
D	3,690	3,690	3,690	0,00	0,000	0,000	0,311	0,000
E	3,732	3,653	3,693	0,06	0,040	-0,040	0,429	1,480
F	3,643	3,672	3,658	0,02	-0,014	0,014	-1,157	0,536
G	3,699	3,653	3,676	0,03	0,023	-0,023	-0,328	0,856
H	3,623	3,672	3,648	0,03	-0,024	0,024	-1,615	0,913
L	3,724	3,663	3,694	0,04	0,031	-0,031	0,461	1,150
M	3,690	3,690	3,690	0,00	0,000	0,000	0,311	0,000

m	3,68334
Cn(2p)	1,867
Cn(p)	1,6101
n=2*p	
n	20
f	11
l	55
n=p	
n	10
f	6
l	15
Qn(2p)	0,01432259
Qn(p)	0,01371912
Qintra	0,02674
Qinter	0,02209
Sr(écart-type de répétabilité)	0,0378
RSDr(coefficient de variation de la répétabilité)	1,03%
r(repeatability limit)	0,106
SL(écart-type interlaboratoire)	-0,00023
SR(écart-type de reproductibilité)	0,0347
RSDR(coefficient de variation de le R(limite de reproductibilité))	0,009
	0,09711869

Laboratoires	Niveau 1		Moyenne	si	Deviation		h	k	D
	Alt								
B	3,690	3,708	3,699	0,01	-0,009	0,009	0,266	0,257	0,022
D	3,708	3,568	3,638	0,10	0,070	-0,070	-0,634	2,061	-0,005
E	3,663	3,699	3,681	0,03	-0,018	0,018	0,000	0,536	-0,017
F	3,643	3,663	3,653	0,01	-0,010	0,010	-0,409	0,286	-0,037
G	3,613	3,732	3,673	0,08	-0,060	0,060	-0,122	1,769	-0,020
H	3,690	3,771	3,731	0,06	-0,040	0,040	0,732	1,193	0,073
I	3,602	3,643	3,623	0,03	-0,021	0,021	-0,857	0,612	-0,053
J	3,748	3,681	3,715	0,05	0,033	-0,033	0,499	0,990	0,067
K	3,748	3,771	3,760	0,02	-0,011	0,011	1,160	0,335	0,066

m	3,68086	mediane D	-0,0046
Cn(2p)	1,867	Cp	1,6101
Cn(p)	1,6101	Qn(D)	0,0325359
n=2*p		Qdiff	0,0523852
n	20	t	0,22
f	11		
l	55		
n=p			
n	10		
f	6		
l	15		
Qn(2p)	0,0181061		
Qn(p)	0,0421258		
Qintra	0,03381		
Qinter	0,06783		
Sr	0,0478		
RSDr	1,30%		
r	0,134		
SL	0,00346		
SR	0,0758		
RSDR	0,021		
R(limite de reproductib	0,212195		

Différences absolues référence (ufc)

	0,0137	-0,0297	-0,0348	0,0000	0,0396	-0,0143	0,0229	-0,0244	0,0308	0,0000	-0,0137	0,0297	0,0348	0,0000	-0,0396	0,0143	-0,0229
0,0137		0,043376	0,048537	0,013719	0,025871	0,028042	0,009160	0,038143	0,017040	0,013719	0,027438	0,015938	0,021099	0,013719	0,053310	0,000603	0,036598
-0,0297			0,005161	0,029657	0,069248	0,015334	0,052536	0,005233	0,060416	0,029657	0,015938	0,059314	0,064475	0,029657	0,009934	0,043980	0,006778
-0,0348				0,034818	0,074409	0,020495	0,057697	0,010394	0,065577	0,034818	0,021099	0,064475	0,069636	0,034818	0,004773	0,049141	0,011939
0,0000					0,039591	0,014323	0,022879	0,024424	0,030759	0,000000	0,013719	0,029657	0,034818	0,000000	0,039591	0,014323	0,022879
0,0396						0,053913	0,016712	0,064015	0,008832	0,039591	0,053310	0,009934	0,004773	0,039591	0,079181	0,025268	0,062469
-0,0143							0,037201	0,010102	0,045082	0,014323	0,000603	0,043980	0,049141	0,014323	0,025268	0,028645	0,008556
0,0229								0,047303	0,007880	0,022879	0,036598	0,006778	0,011939	0,022879	0,062469	0,008556	0,045757
-0,0244									0,055183	0,024424	0,010705	0,054081	0,059242	0,024424	0,015166	0,038747	0,001546
0,0308										0,030759	0,044478	0,001102	0,004059	0,030759	0,070350	0,016436	0,053638
0,0000											0,013719	0,029657	0,034818	0,000000	0,039591	0,014323	0,022879
0,0087												0,020970	0,026131	0,008687	0,048278	0,005636	0,031566
-0,0697													0,104502	0,069684	0,030094	0,084007	0,046805
0,0348														0,034818	0,074409	0,020495	0,057697
0,0000															0,039591	0,014323	0,022879
-0,0396																0,053913	0,016712
0,0143																	0,037201
-0,0229																	
0,0244																	
-0,0308																	
0,0000																	

Différences absolues alternative(ufc)

	-0,0087	0,0697	-0,0181	-0,0097	-0,0598	-0,0403	-0,0207	0,0335	-0,0113	0,0000	0,0087	-0,0697	0,0181	0,0097	0,0598	0,0403	0,0207
-0,0087		0,020970	0,026131	0,008687	0,048278	0,005636	0,031566	0,015737	0,039446	0,008687	0,005032	0,038344	0,043505	0,008687	0,030904	0,023010	0,014192
0,0697			0,104502	0,069684	0,030094	0,084007	0,046805	0,094109	0,038925	0,069684	0,083403	0,040027	0,034866	0,069684	0,109275	0,055362	0,092563
-0,0181				0,018106	0,057697	0,003783	0,040985	0,006318	0,048865	0,018106	0,004387	0,047763	0,052924	0,018106	0,021485	0,032429	0,004773
-0,0097					0,049243	0,004670	0,032531	0,014772	0,040412	0,009653	0,004067	0,039310	0,044471	0,009653	0,029938	0,023975	0,013226
-0,0598						0,045482	0,082684	0,035381	0,090564	0,059805	0,046086	0,089462	0,094623	0,059805	0,020214	0,074128	0,036926
-0,0403							0,063207	0,015904	0,071087	0,040328	0,026609	0,069985	0,075146	0,040328	0,000737	0,054651	0,017449
-0,0207								0,003728	0,051455	0,020696	0,006977	0,050353	0,055514	0,020696	0,018894	0,035019	0,002182
0,0335									0,002714	0,033473	0,047193	0,003816	0,001345	0,033473	0,073064	0,019151	0,056352
-0,0113										0,011332	0,002387	0,040989	0,046150	0,011332	0,028259	0,025655	0,011547
0,0000											0,013719	0,029657	0,034818	0,000000	0,039591	0,014323	0,022879
0,0087												0,020970	0,026131	0,008687	0,048278	0,005636	0,031566
-0,0697													0,104502	0,069684	0,030094	0,084007	0,046805
0,0181														0,018106	0,057697	0,003783	0,040985
0,0097															0,049243	0,004670	0,032531
0,0598																0,045482	0,082684
0,0403																	0,063207
0,0207																	
-0,0335																	
0,0113																	
0,0000																	

Différences absolues référence (moyennes)

	3,676	3,642	3,698	3,690	3,693	3,658	3,676	3,648	3,694	3,690
3,676		0,034036	0,021099	0,013719	0,016326	0,018702	0,000386	0,028803	0,017040	0,013719
3,642			0,055135	0,047755	0,050362	0,015334	0,033650	0,005233	0,051076	0,047755
3,698				0,007380	0,004773	0,039801	0,021485	0,049902	0,004059	0,007380
3,690					0,002607	0,032421	0,014105	0,042523	0,003321	0,000000
3,693						0,035028	0,016712	0,045130	0,000714	0,002607
3,658							0,018316	0,010102	0,035742	0,032421
3,676								0,028418	0,017426	0,014105
3,648									0,045843	0,042523
3,694										0,003321
3,690										

Différences absolues alternative (moyennes)

	3,699	3,638	3,681	3,653	3,673	3,731	3,623	3,715	3,760	0,000
3,699		0,060997	0,018019	0,045778	0,026294	0,031641	0,076127	0,015832	0,060637	3,698883
3,638			0,042978	0,015219	0,034703	0,092638	0,015130	0,076829	0,121634	3,637886
3,681				0,027759	0,008275	0,049660	0,058108	0,033851	0,078656	3,680864
3,653					0,019484	0,077419	0,030349	0,061609	0,106415	3,653105
3,673						0,057935	0,049832	0,042126	0,086931	3,672589
3,731							0,107768	0,015809	0,028996	3,730524
3,623								0,091958	0,136764	3,622756
3,715									0,044805	3,714715
3,760										3,759520
0,000										

Différences absolues (Différences D)

	0,022	-0,005	-0,017	-0,037	-0,020	0,073	-0,053	0,067	0,066	0,000
0,022		0,026961	0,039118	0,059497	0,042621	0,050343	0,075741	0,044635	0,043597	0,022406
-0,005			0,012157	0,032536	0,015659	0,077304	0,048780	0,071596	0,070558	0,004555
-0,017				0,020379	0,003502	0,089461	0,036623	0,083753	0,082715	0,016712
-0,037					0,016876	0,109840	0,016244	0,104132	0,103094	0,037091
-0,020						0,092963	0,033121	0,087255	0,086217	0,020214
0,073							0,126084	0,005708	0,006746	0,072749
-0,053								0,120376	0,119338	0,053335
0,067									0,001038	0,067041
0,066										0,066003
0,000										