



Validation AFNOR du système 3M™
Petrifilm™ Staph Express (STX)
pour la numération de *Staphylococcus*
« à coagulase positive »

Méthode de référence NF EN ISO 6888-2

Rapport de synthèse

Date de validation: 27/09/2007
Numéro d'attestation : 3M 01/9-04/03 B

Synthèse Petrifilm STX vs RPF 2008-v02

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 :

LABORATOIRES 3M SANTE
Boulevard de l'Oise
95 029 CERGY PONTOISE CEDEX
FRANCE

1 Introduction

1.1 Référentiel de validation

L'étude de reconduction de validation de la méthode Petrifilm Staph Express pour le dénombrement de *Staphylococcus* à coagulase positive a été réalisée en conformité avec le référentiel NF EN ISO 16140 par rapport à la méthode de référence ISO 6888-2.

1.2 Protocole et principe de la méthode alternative

1.2.1 Principe de la méthode

Le système de numération Petrifilm™ Staph Express comprend un test Petrifilm Staph Express pour la numération de *Staphylococcus* à coagulase positive et un disque pour test Petrifilm Staph Express, qui sont conditionnés séparément.

Le test Petrifilm Staph Express est un milieu de culture prêt à l'emploi qui contient un agent gélifiant soluble dans l'eau froide. C'est un milieu chromogène, dérivé du milieu de Baird-Parker, sélectif et différentiel pour *Staphylococcus* à coagulase positive.

Le disque pour test Petrifilm Staph Express contient un système de détection au bleu de O-Toluidine qui facilite l'observation des réactions de desoxyribonucléase (DNase).

Les microorganismes à DNase positive détectés par les tests Petrifilm Staph Express sont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus* et *Staphylococcus intermedius*. Ces trois espèces comprennent la majorité des microorganismes communément connus comme staphylocoques à coagulase positive.

1.2.2 Protocole de la méthode

Les schémas analytiques sont présentés sur les figures 1 and 2.

Figure 1 : Test 3M™ Petrifilm™ Staph Express

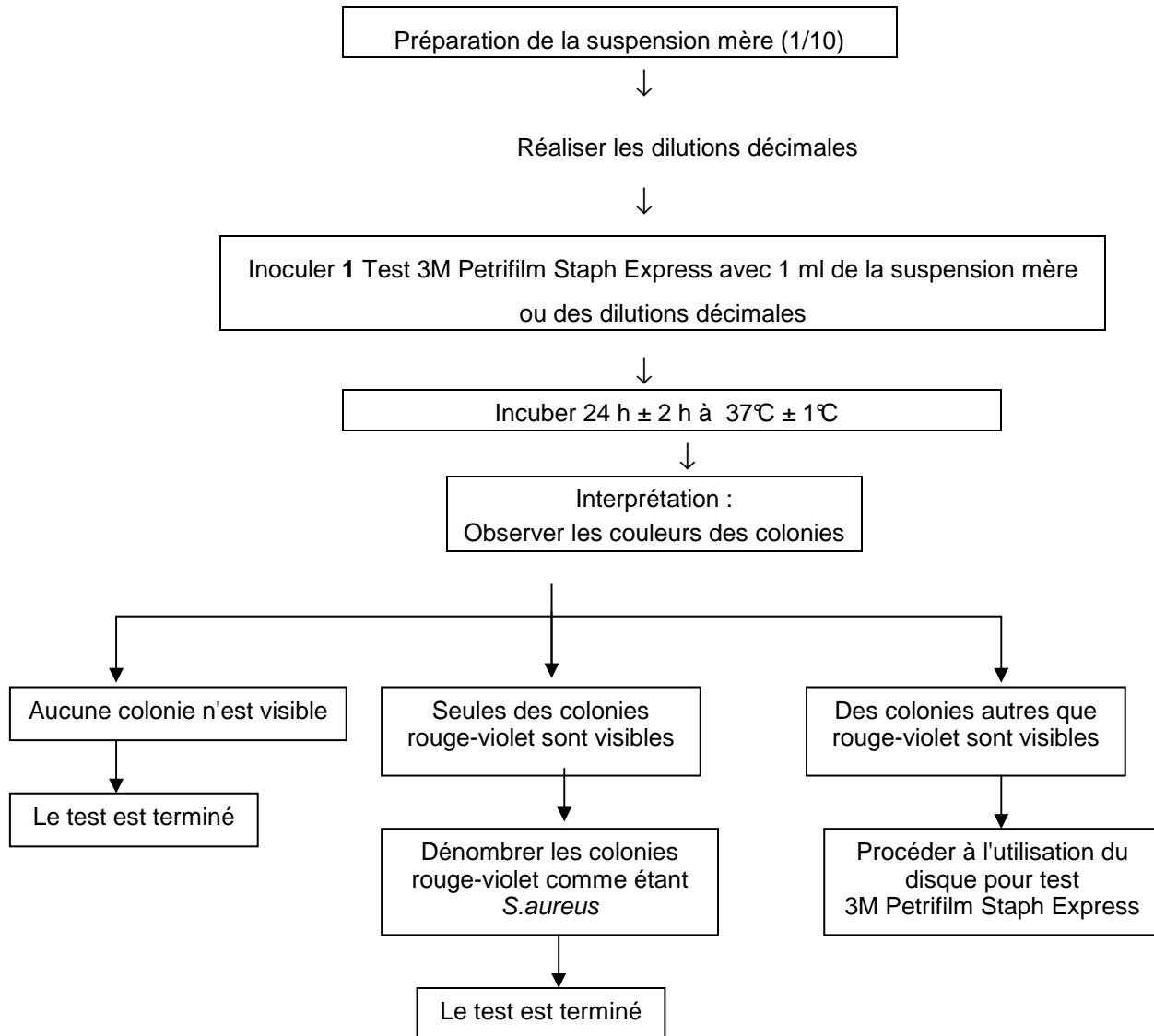
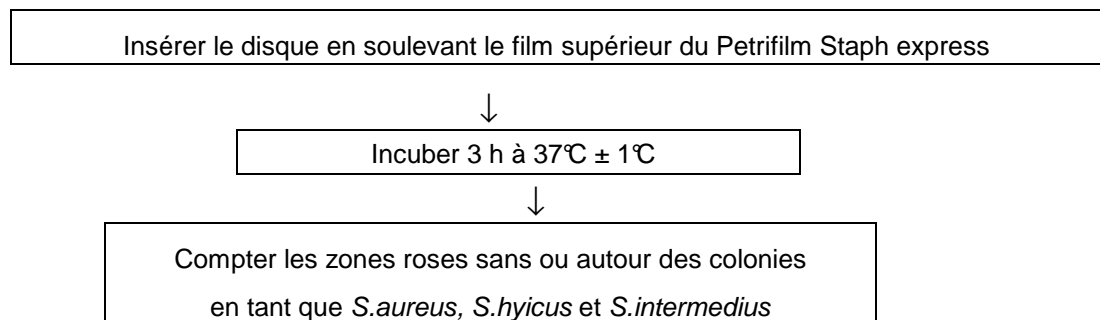


Figure 2 : Disque 3M™ Petrifilm™ Staph Express



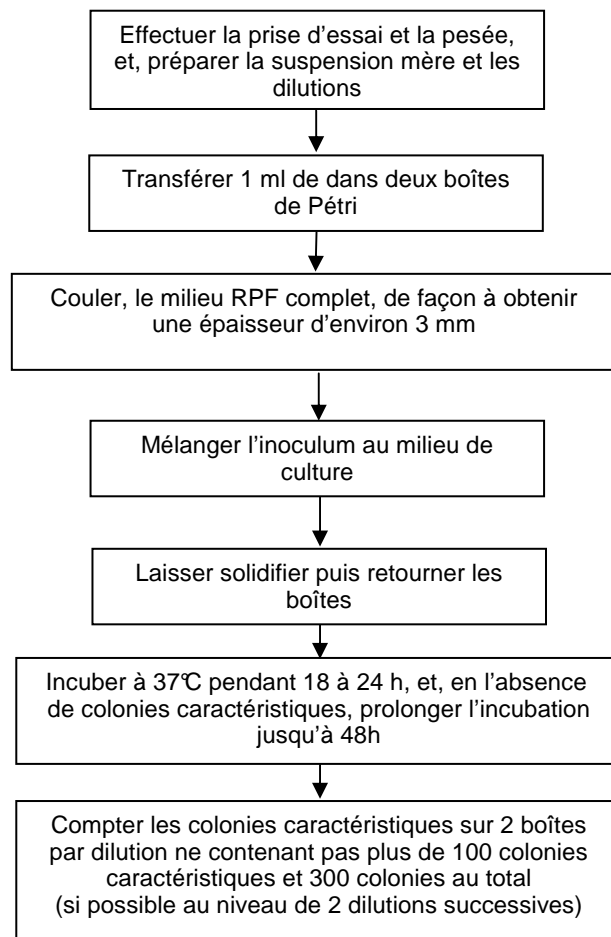
1.3 Domaine d'application

Tous produits d'alimentation humaine et d'alimentation pour animaux de compagnie

1.4 Méthode de référence

La méthode NF EN ISO 6888-2 :1999 et NF EN ISO 6888-2/A1 :2003, utilisant le milieu RPF, ensemencé en profondeur, est la méthode de référence qui a été utilisée dans le cadre de cette validation. Cette méthode est une méthode sans confirmation des colonies caractéristiques. Le schéma analytique est présenté sur la figure 3.

Figure 3 : NORME NF EN ISO 6888-2



1.5 Historique de la validation

La méthode Petrifilm Staph Express est validée sous le numéro d'attestation 3M 01/9-04/03 **A** depuis avril 2003, pour l'alimentation humaine.

La méthode de référence utilisée pour la validation initiale était la norme NF EN ISO 6888-1 :1999, ainsi que son amendement de 2004.

Des essais en comparaison avec la norme NF EN ISO 6888-2 :1999, avec son amendement de 2003 ont été présentés en 2008 et font l'objet du 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 EN ISO 6888-2, utilisant la gélose RPF,
- le système STX.

Au total, 200 produits ont été analysés, de manière à obtenir au moins 50 résultats exploitables.

Au total, 197 produits ont été analysés, de manière à obtenir au moins 50 résultats exploitables.

Catégories	Types	Echantillons analysés	Echantillons exploités
Produits carnés	viandes et abats	26	11
	produits préparés à cuire	12	7
	charcuteries	17	6
	TOTAL	55	24
Produits laitiers	fromages	30	8
	lait et crème crus	14	7
	glaces	5	5
	TOTAL	49	20
Produits de la pêche	poissons crus	10	5
	crustacés	9	5
	produits préparés	12	6
	TOTAL	31	16
Produits végétaux	crus	4	2
	salades	16	9
	cuits	3	1
	TOTAL	26	12
Pâtisseries Ovoproduits	pâtisserie avec crème	8	6
	pâtisserie avec crème aux œufs	6	3
	ovoproduits	3	1
	TOTAL	17	10
Alimentation animale (animaux de compagnie)	croquettes	14	7
	à base de viande crue	4	4
	pâtés	4	2
	TOTAL	22	13
TOTAL		197	95

Les 102 échantillons pour lesquels les résultats n'étaient pas interprétables présentaient :

- des dénombrements inférieurs à 10 UFC/g (ou <100 UFC/g) par les deux méthodes pour 58 d'entre-eux,
- des dénombrements inférieurs à 10 UFC/g (ou plus) par l'une des deux méthodes pour 21 d'entre-eux,
- des résultats non interprétables (envahissement ou trop de flore interférente) pour 23 d'entre-eux

2.1.2 Contaminations artificielles

Des contaminations artificielles ont été réalisées, en utilisant des suspensions contaminantes stressées dont le traitement et l'efficacité du stress ont été déterminés. 14 résultats ont été exploités suite à des contaminations artificielles.

Le pourcentage de contaminations artificielles est de 1(% pour l'ensemble des échantillons dont les résultats étaient interprétables.

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, exprimés en log, figurent en annexe A.

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).

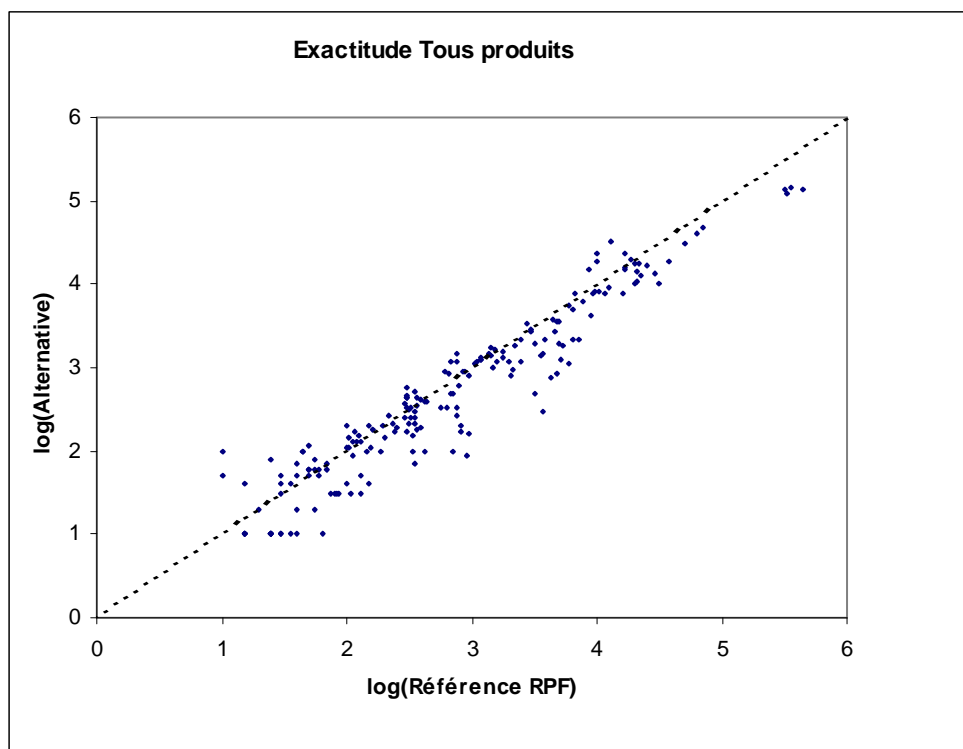
La relation d'exactitude relative est évaluée avec le modèle : $y = bx + a$.

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

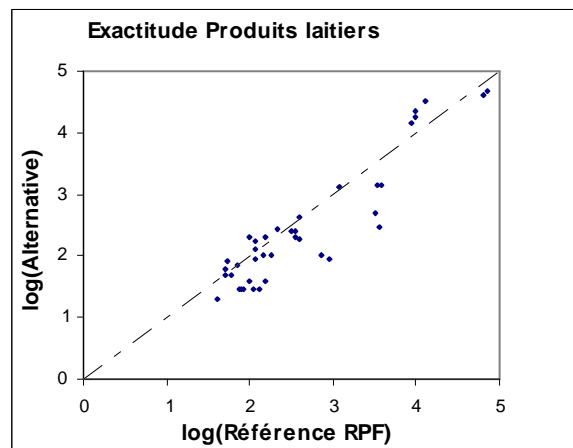
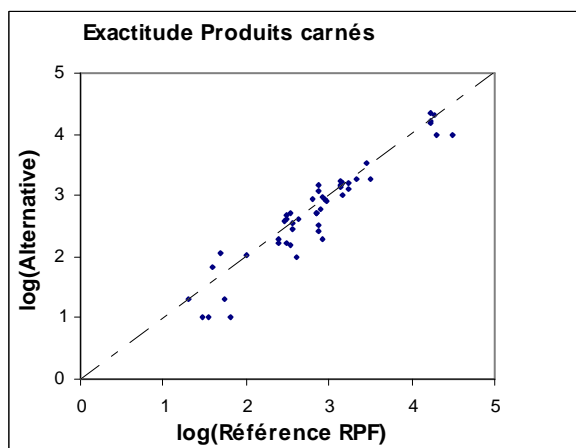
En fonction du rapport de ces écarts-type $R = sr(y)/sr(x)$ et $Rob.R = Rob.sr(y)/Rob.sr(x)$, la régression linéaire à utiliser pour l'interprétation est définie dans la norme NF EN ISO 16140.

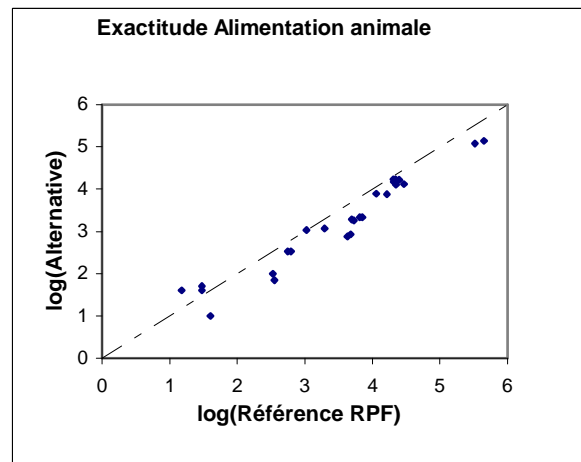
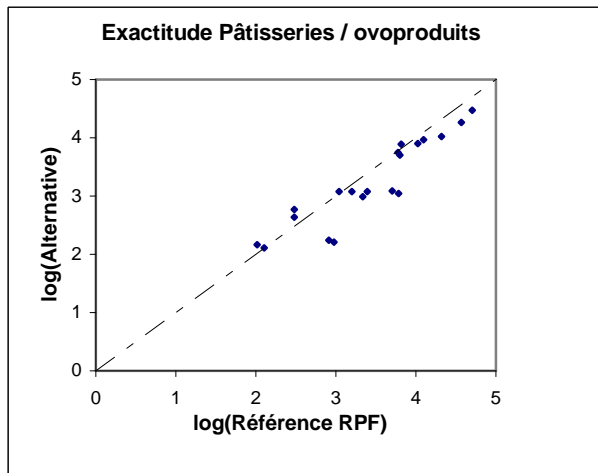
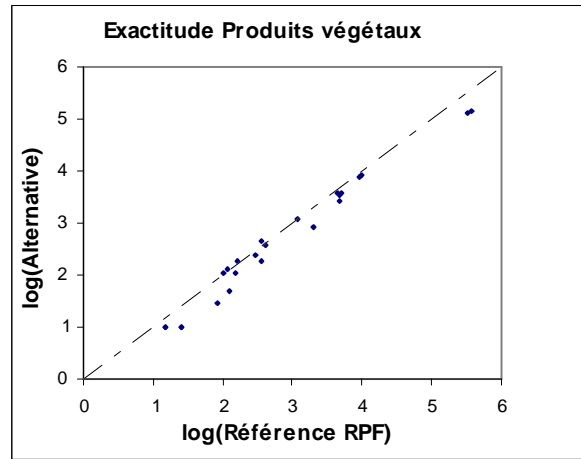
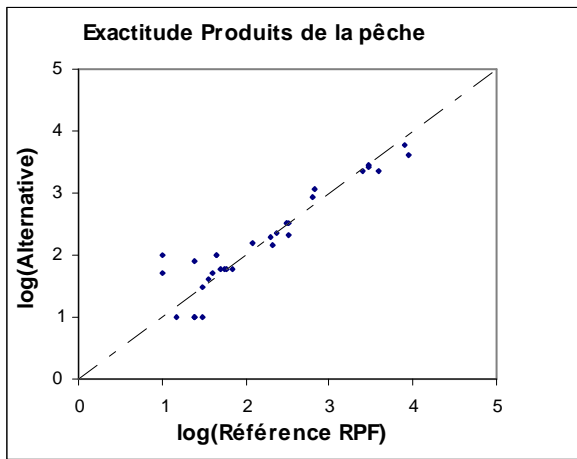
Les graphiques suivants représentent les valeurs brutes obtenues pour les échantillons analysés, toute catégories confondues et par catégorie de produits.

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



Les graphiques suivants représentent les valeurs brutes obtenues pour les échantillons analysés, par catégorie de produits.





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

La régression utilisée, ainsi que les valeurs de a et b obtenues et les conclusions associées sont reprises dans le tableau suivant. Ces valeurs permettent de comparer le système 3M™ Petrifilm™ Staph Express et la méthode de référence.

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	a	t(a)	p(t ;a=0)	b	t(b)	p(t ;b=1)	Conclusion
Tous produits	1,044	GMFR	-0,083	0,981	0,329	0,979	0,760	0,449	{a=0} acceptée {b=1} acceptée

L'équation de la droite de régression obtenue entre la méthode alternative et la méthode de référence, pour tous produits, est la suivante :

$$\text{Log Alt} = 0,9787 \text{ log Ref} - 0,0827$$

Le graphique représentant la droite de régression obtenues ($y = bx + a$), avec l'axe vertical (y) utilisé pour la méthode alternative et l'axe horizontal (x) utilisé pour la méthode de référence, est présenté en annexe A.

D'autres paramètres ont été calculés sur les données d'exactitude relative :

- les répétabilités de la méthode alternative et de la méthode de référence,
- le biais entre la méthode alternative et la méthode de référence.

Matrice	Répétabilité robuste		Biais (D) en log (alternative – référence)		Domaine (en log)
			moyen	médian	
	Réf.	Alt.			
Produits carnés	0,25	0,21	-0,102	-0,086	1,00 - 4,36
Produits laitiers	0,28	0,32	-0,193	-0,127	1,48 - 4,85
Produits pêche	0,26	0,35	+0,033	-0,046	1,00 - 3,96
Produits végétaux	0,17	0,14	-0,186	-0,187	1,00 - 5,56
Pâtisseries - Ovoproduits	0,22	0,17	-0,204	-0,121	2,10 - 4,70
Alimentation animale	0,15	0,10	-0,321	-0,293	1,00 - 5,63
Tous produits	0,22	0,23	-0,143	-0,126	1,00 - 5,63

2.1.5 Conclusion

Les hypothèses $\{a=0\}$ et $\{b=1\}$ sont statistiquement acceptées, individuellement pour chacune des catégories et pour tous produits confondus. 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 :

- 0,22 log pour la méthode de référence NF EN ISO 6888-2,
- 0,23 log pour la méthode Petrifilm™ Staph Express.

Ces limites de répétabilité sont équivalentes entre méthode de référence et méthode alternative

Le biais calculé entre la méthode alternative et la méthode de référence est de $-0,14$ log UFC/g (moyen) ou $-0,13$ log UFC/g (médian).

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 types d'aliments ont été contaminés à cinq niveaux de contamination. Pour chaque produit et chaque niveau de contamination, deux répétitions ont été réalisées.

Les produits contaminés étaient les suivants :

- viande hachée
- lait cru
- filet de poisson cru
- carottes râpées
- pâté pour animaux

Les niveaux de contamination ont été répartis entre 100/g et 100 000/g, en ciblant :

- niveau minimal : 100 à 500 UFC/g
- niveau intermédiaire 1 : 500 à 1000 UFC/g
- niveau moyen : 1000 à 5000 UFC/g
- niveau intermédiaire 2 : 5000 à 10 000 UFC/g
- niveau maximal : 10 000 à 100 000 UFC /g

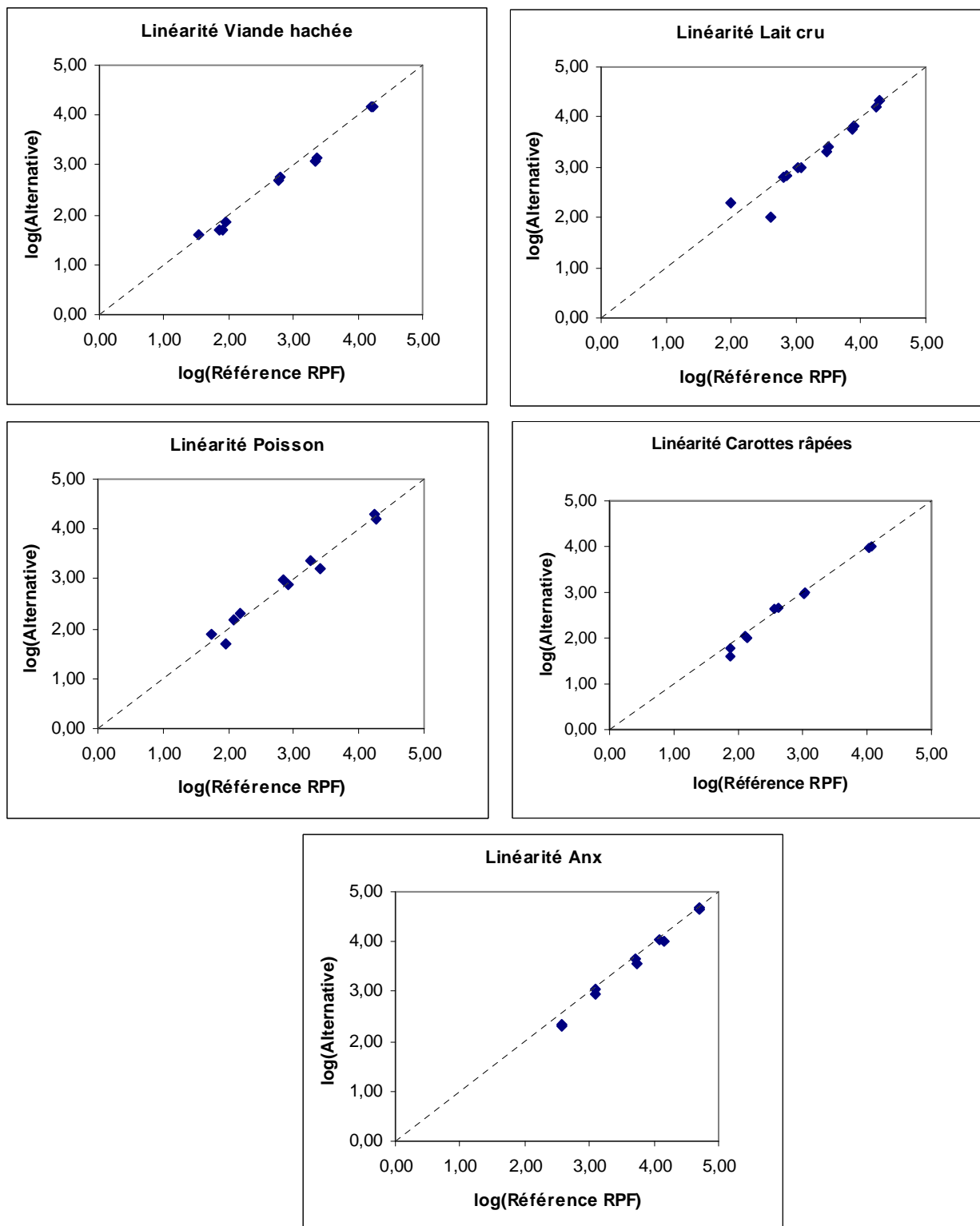
Les produits ont été contaminés, à chacun de ces niveaux, par *Staphylococcus aureus*.

Produit	Souche	Origine
Viande hachée	<i>Staphylococcus aureus</i>	Viande hachée
Lait cru	<i>Staphylococcus aureus</i>	Yaourt glacé
Filet de poisson cru	<i>Staphylococcus aureus</i>	Saumon fumé
Carottes râpées	<i>Staphylococcus aureus</i>	Salade composée
Pâté pour chien	<i>Staphylococcus aureus</i>	Produit carné

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 ($y = x$).



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 régressions utilisées, ainsi que les valeurs de Rob.F sont détaillées dans le tableau suivant :

Matrice	Rob.R	Régression utilisée	Fcritique	Rob.F	p (Rob.F) %	Conclusion
viande hachée	2,195	OLS	5,41	10,122	1 %	non linéaire
lait cru	1,643	GMFR	5,19	1,751	25 %	linéaire
poisson cru	1,506	GMFR	5,41	0,363	78 %	linéaire
carottes râpées	1,094	GMFR	5,41	38,225	0 %	non linéaire
pâté pour chien	1,607	GMFR	5,41	11,321	1 %	non linéaire

Les équations des droites de régression entre la méthode alternative et la méthode de référence sont reprises dans le tableau ci-dessous :

viande hachée	Log Alt = 0,9958 log Ref - 0,0945	R ² = 0,991
lait cru	Log Alt = 1,0306 log Ref - 0,1781	R ² = 0,995
poisson cru	Log Alt = 0,9885 log Ref + 0,0529	R ² = 0,994
carottes râpées	Log Alt = 1,0418 log Ref - 0,1828	R ² = 0,992
pâté pour chien	Log Alt = 1,0789 log Ref- 0,3991	R ² = 0,998

2.2.4 Conclusion

Les tests statistiques concluent à une relation linéaire pour les matrices « lait cru » et « poisson cru ».

Pour la viande hachée, les carottes râpées et le pâté pour chien, le test de non linéarité est très significatif.

Il est à noter que pour ces trois matrices, les coefficients de corrélation sont très élevés, de l'ordre de 99%, ce qui peut mettre en défaut la robustesse du test de non linéarité.

Au vu de droites de régression obtenues, la linéarité apparaît satisfaisante.

2.3 Spécificité / sélectivité (inclusivité / exclusivité)

L'objectif de cette étude est de s'assurer que les *Staphylococcus* à coagulase positive (*S.aureus*, *S.hyicus* et *S.intermedius*) sont détectés, qu'il n'existe pas de réactions croisées avec d'autres espèces que *Staphylococcus* ou d'autres genres.

2.3.1 Protocole

Les souches ont été cultivées en bouillon cœur-cerveille pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Différentes dilutions ont été réalisées et inoculées sur le test 3M™ Petrifilm™ Staph Express et sur gélose Baird Parker.

Pour étudier la spécificité du système complet, quelles que soient les conditions d'utilisation, le disque a été inséré dans tous les cas. La croissance, la couleur et la réaction DNase ont été observées.

2.3.2 Résultats et conclusion

Les résultats sont présentés en annexe B.

✓ Les 28 souches de *Staphylococcus aureus* testées donnent des colonies violettes sur Petrifilm Staph Express. La pose du disque a ensuite permis de détecter des zones roses caractéristiques des *Staphylococcus* à coagulase positive.

✓ Les autres souches de *Staphylococcus*, à coagulase positive, *S. hyicus* and *S. intermedius*, ont présenté un aspect typique: les colonies étaient rouge-violet ou noires, et après révélation avec le disque, les colonies sont entourées par une zone rose.

✓ Parmi les 26 souches non cibles testées, 15 autres *Staphylococcus* coagulase négative et 11 souches d'autres genres, aucune n'a donné de colonies typiques sur Petrifilm Staph Express ou après révélation sur disque.

La spécificité et la sélectivité sont satisfaisantes.

Le système 3M™ Petrifilm™ Staph Express a permis de détecter tous les *Staphylococcus*, à coagulase positive testés. Toutes les colonies présentaient un aspect caractéristique après incubation et révélation avec le disque.

3 Etude interlaboratoire

3.1 Organisation de l'étude

- Nombre de laboratoires participants

13 laboratoires étaient destinataires des échantillons.

- Echantillons

La matrice « lait pasteurisé » a été contaminée avec une souche de *Staphylococcus aureus*, origine « produits laitiers ».

- 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 avec la méthode de référence et la méthode alternative.

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

3.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

3.2.1 Avant ensemencement

Le lait pasteurisé utilisé a été analysé (5 prises d'essai), selon la méthode de référence NF EN ISO 6888-1, avant les contaminations, pour nous assurer de l'absence de *Staphylococcus* à coagulase positive.

Aucune des prises d'essai de 25 ml ne contenait de *Staphylococcus* à coagulase positive.

La flore naturelle présente dans la matrice était de l'ordre de 10 cellules par mL.

3.2.2 Taux de contamination obtenus

Les taux de contaminations obtenus dans la matrice et les estimations des précisions figurent dans le tableau ci-dessous:

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (CFU/ml)	Taux réel (CFU/ml)
Niveau 0 (L0)	1 et 8	0	0
Niveau bas (L1)	2 et 7	100	81
Niveau intermédiaire (L2)	3 et 6	1 000	810
Niveau haut (L3)	4 et 5	10 000	8100

3.2.3 Stabilité des échantillons

Le suivi du niveau de contamination en *Staphylococcus aureus* a été réalisé pendant 48 heures préalablement à l'envoi, dans du lait pasteurisé, sur des échantillons contaminés au taux intermédiaire et conservés à 7°C.

Les résultats obtenus, en UFC/ml, figurent dans le tableau suivant :

	J0	J1	J2
Echantillon 1	1400	1500	2000
Echantillon 2	1500	1400	1900
Echantillon 3	1900	2000	1700

Ces résultats montrent une stabilité de la souche dans les échantillons préparés.

3.3 Température des échantillons

3.3.1 Au cours du transport

Les courbes de températures obtenues suite à l'exploitation des données des thermoboutons montrent que les températures étaient stables au cours du transport.

Toutes les températures étaient comprises entre 0°C et 8°C.

3.3.2 A réception

Les températures mesurées à réception sont reprises dans le tableau ci-dessous :

Laboratoire	Températures à réception (°C)		Commentaires
	communiquée par le laboratoire	mesurée par le thermobouton	
A	6.5	1.9	/
B	5.0	2.4	/
C	1.2	2.4	/
D	3.0	0.4	/
E	1.7	0.0	/
F	4.0	4.5	/
G	9.4	7.9	Réception à J+2
H	5.0	4.9	/
I	12.3	4.4	/
J	/	3.0	/
K	3.7	3.5	/
L	1.5	1.9	/
M	0.7	1.4	/

3.3.3 Conclusion

Le laboratoire G a reçu ses échantillons à J+2, donc le jour où l'ensemble des laboratoires devait réaliser les analyses. La température des échantillons pendant ces 48 heures était restée en-dessous de 8°C.

Le laboratoire I a annoncé une température de 12,3°C, mais le thermobouton indique une température de 4,4°C, donc conforme aux exigences.

Leurs résultats sont donc exploitables.

La courbe obtenue pour le laboratoire M montrait une température enregistrée supérieure à 8°C après réception des échantillons. Ses résultats ne seront donc pas pris en compte.

Au total, les résultats de 12 laboratoires peuvent donc être traités statistiquement suite aux conditions préalables à l'analyse.

3.4 Résultats

3.4.1 Laboratoire expert

Les résultats obtenus par la méthode NF EN ISO 6888-2 et par la méthode Petrifilm™ Staph Express sont concordants.

	Méthode de référence NF EN ISO 6888-1		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
Niveau 0	<10	<10	<10	<10
Niveau 1	95	30	40	40
Niveau 2	650	620	370	600
Niveau 3	6700	6700	6100	6200

Les résultats de la méthode de référence EN ISO 6888-2 et de la méthode alternative sont concordants.

3.4.2 Laboratoires collaborateurs

Les résultats des 12 laboratoires ayant réalisé les analyses sont les suivants :

Niveau 0 (résultats in CFU/ml)

Laboratoire	Méthode de référence NF EN ISO 6888-2		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	<10	<10	<10	<10
B	<10	<10	<10	<10
C	<10	<10	<10	<10
D	<10	<10	<10	<10
E	<10	<10	<10	<10
F	<10	<10	<10	<10
G	<10	<10	<10	<10
H	<10	<10	<10	<10
I	<10	<10	<10	<10
J	<10	<10	<10	<10
K	<10	<10	<10	<10
L	<10	<10	<10	<10
M	Non interprétable	Non interprétable	Non interprétable	Non interprétable

Niveau 1 (résultats in CFU/ml)

Laboratoire	Méthode de référence NF EN ISO 6888-2		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	70	55	80	100
B	110	65	40	90
C	85	90	40	90
D	75	75	70	90
E	80	70	40	40
F	55	60	70	60
G	85	65	30	40
H	100	Non interprétable	80	60
I	110	95	80	170
J	100	91	110	70
K	110	100	50	50
L	90	118	90	60
M	Non interprétable	Non interprétable	<10	60

Niveau 2 (résultats in CFU/ml)

Laboratoire	Méthode de référence NF EN ISO 6888-2		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	780	870	590	720
B	580	680	500	620
C	1000	1000	580	710
D	1000	1000	780	830
E	840	810	560	680
F	990	860	670	710
G	930	720	630	670
H	Non interprétable	880	920	860
I	900	970	600	860
J	720	900	520	540
K	890	1100	680	620
L	950	1000	680	740
M	Non interprétable	Non interprétable	740	600

Niveau 3 (résultats in CFU/ml)

Laboratoire	Méthode de référence NF EN ISO 6888-2		Méthode alternative	
	Duplicat 1	Duplicat 2	Duplicat 1	Duplicat 2
A	8800	10000	7900	4600
B	8100	7200	5500	4800
C	16000	14000	9700	7600
D	11000	11000	8500	10000
E	7900	6900	5500	5800
F	8500	9600	4100	6300
G	7900	8600	6500	7500
H	Non interprétable	30000	8500	8900
I	9200	11000	11000	10000
J	9000	11000	5200	5100
K	8500	8000	6300	7100
L	10000	10000	8400	7500
M	Non interprétable	Non interprétable	8300	8600

3.4.3 Conclusion

Les résultats du **laboratoire M** sont présentés, mais ne sont pas exploités statistiquement suite aux problèmes de température lors de la conservation des échantillons. De plus, ce laboratoire a rencontré des difficultés dans la mise en œuvre de la méthode de référence. En revanche, ses résultats obtenus par la méthode alternative semblent tout à fait cohérents.

Le **laboratoire H** a rencontré des problèmes d’envahissement des boîtes. Ses résultats ne sont donc pas exploitables.

Au final, l’interprétation statistique a été réalisée sur 11 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 :

$t(d) = MED\{d_i\} \sqrt{n} / s\{d_i\}$	pour n-1 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 les tableaux ci-dessous :

	Biais D (log)	$s\{d_i\}$	$t(d)$	$T_{critique}$	Conclusion
Niveau 1	-0,139	0,219	2,103	2,228	{D=0} acceptée
Niveau 2	-0,127	0,039	10,753		{D=0} rejetée
Niveau 3	-0,118	0,115	3,399		{D=0} rejetée

Rappel :

La valeur du biais (alternative – référence) obtenue dans l’étude comparative était de l’ordre de (- 0,13 log).

Conclusion :

L’hypothèse selon laquelle le biais entre les deux méthodes est nul est statistiquement acceptée pour le premier niveau. Pour les deux niveaux supérieurs, l’hypothèse est rejetée. Néanmoins, les valeurs des biais sont similaires à celles obtenues pour le niveau 1 et pour l’étude comparative.

L’exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est, de ce fait, satisfaisante.

3.5.2 Répétabilité

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

Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	r (log UFC/mL) -Méthode de référence	r (log UFC/mL) - Méthode alternative
Niveau 1	0,122	0,367
Niveau 2	0,114	0,125
Niveau 3	0,147	0,158

3.5.2.2 Interprétation

Les répétabilités des méthodes alternative et de référence sont comparées, pour chacun des niveaux, à l'aide d'une distribution F : $F = (S_{r,alt} / S_{r,réf})^2$ avec n et n degrés de liberté

Si F (ou 1/F) est supérieure à la valeur critique F ($\alpha ; n ; n$), alors les méthodes comparées ont une répétabilité différente pour le niveau considéré.

Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	F (ou 1/F*)	F (0,05 ;n ;n)	n	Conclusion
Niveau 1	9,11	2,85	11	Répétabilités différentes
Niveau 2	1,27*			Répétabilités comparables
Niveau 3	1,16			Répétabilités comparables

3.5.2.3 Conclusion

Les répétabilités obtenues pour la méthode de référence et la méthode alternative sont statistiquement comparables pour les deux niveaux supérieurs.

Pour le niveau faible les répétabilités sont différentes.

Rappel :

Les valeurs de répétabilités obtenues dans l'étude comparative était de l'ordre de 0,22 log pour la méthode de référence et de 0,23 log pour la méthode alternative.

3.5.3 Reproductibilité

3.5.3.1 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

Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	R (log UFC/mL) - Méthode de référence	R (log UFC/mL) - Méthode alternative
Niveau 1	0,323	0,554
Niveau 2	0,240	0,161
Niveau 3	0,256	0,427

3.5.3.2 Interprétation

Les reproductibilités des méthodes alternatives et de référence sont comparées, pour chacun des niveaux, à l'aide d'une distribution F : $F = (S_{R,alt} / S_{R,réf})^2$ avec (n-1) et (n-1) degrés de liberté

Si F (ou 1/F) est supérieure à la valeur critique F ($\alpha ; n-1 ; n-1$), alors les méthodes comparées ont une reproductibilité différente pour le niveau considéré.

Ces valeurs sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

	F	F (0,05 ;n-1 ;n-1)	n	Conclusion
Niveau 1	2,94	2,98	11	Reproductibilités comparables
Niveau 2	2,23			Reproductibilités comparables
Niveau 3	2,78			Reproductibilités comparables

3.5.3.3 Conclusion

Pour tous les niveaux, les deux méthodes sont comparables en terme de reproductibilité.

4 Praticabilité

La praticabilité est étudiée en fonction des 13 critères définis par le bureau technique en comparant le système de numération 3M™ Petrifilm™ Staph Express à la méthode de référence NF ISO 6888-1.

Critère	Communication sur le critère
1. Mode de conditionnement des éléments de la méthode (cf notice) 2. Volume des réactifs (cf notice et emballage des flacons)	Les tests sont conditionnés en poches plastique scellées soit : - en boîte de 2 poches de 25 unités (50 unités), - en boîte de 20 poches de 25 unités (500 unités). Les disques sont conditionnés individuellement en poches plastique scellées soit : - en boîte de 1 poche de 20 unités, - en boîte de 5 poches de 20 unités (100 unités).
3. Condition de stockage des éléments (cf notice) – Péréemption des produits non ouverts (cf notice)	La température de stockage des tests Petrifilm et des disques avant ouverture est inférieure ou égale à 8°C. La date de péréemption est indiquée sur l'emballage et sur les tests et disques Petrifilm Staph Express (durée de vie de 18 mois après la sortie d'usine).
4. Modalités d'utilisation après première utilisation (cf notice)	Après ouverture des tests Petrifilm™ Staph Express , replacer les tests non utilisés dans leur poche. Refermer hermétiquement avec un ruban adhésif. Ne pas réfrigérer les poches ouvertes pour éviter une exposition à l'humidité. Stocker les dans un endroit frais et sec un mois au maximum. Pour conserver les disques restants dans une poche ouverte, fermer la poche avec un ruban adhésif après avoir refermé sur lui-même le côté ouvert. Placer les poches ainsi refermées dans un récipient étanche et les conserver dans un congélateur moins de 6 mois. Ces informations sont indiquées dans le notice 3M™ Petrifilm™ StaphExpress
5. Equipements ou locaux spécifiques nécessaires (cf notice)	Configuration normale et matériel courant d'un laboratoire de microbiologie. Rien de spécifique à part un diffuseur en plastique pour les tests Petrifilm STX disponible auprès de 3M (indiqué sur la notice). Lecture facilitée par l'utilisation d'une loupe.
6. Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer (cf notice)	Les Petrifilm sont prêts à l'emploi .
7. 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.
8. Temps réel de manipulation et flexibilité de la technique par rapport au nombre d'échantillons à analyser	Gain de temps de 5 minutes maximum par échantillon en comparaison à la méthode de référence qui demande des tests de confirmation (recherche de l'activité coagulase sur 20 colonies).
9. Délai de réponse des résultats	Resultat obtenu en 24 heures (J1) quel que soit le type de réponse : présence ou non de <i>Staphylococci</i> coagulase positive dans l'échantillon. L'analyse d'un échantillon par la méthode de référence ISO 6887-2 donne un résultat en 24 à 48 heures.
10. Type de qualification de l'opérateur	L'utilisateur doit être formé aux bonnes pratiques de laboratoire de microbiologie alimentaire.
11. Etapes communes avec la méthode de référence	Réalisation de la suspension mère, du broyage et des dilutions
12. Traçabilité des résultats d'analyse	Aucune traçabilité particulière, elle est la même que celle de la méthode de référence. Le numéro de lot est indiqué sur chaque Petrifilm.
13. Maintenance par le laboratoire	No particular service.

5 Conclusion

Le système 3M™ Petrifilm™ Staph Express pour le dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase positive est un **test miniaturisé** avec un milieu chromogénique sélectif et différentiel pour *Staphylococcus* à coagulase-positif, qui ne nécessite pas de tests de confirmation complémentaire. Ainsi, Le système Petrifilm Staph Express est une méthode **facile à mettre en œuvre**. Et il permet un **gain d'espace dans les incubateurs**.

Quelques difficultés de lecture peuvent apparaître lorsque les produits présentent des niveaux importants de flore interférente, de la même manière que dans la méthode de référence.

Le système Petrifilm Staph Express pour le dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase positive permet un **gain de temps** par rapport à la méthode de référence, en particulier pour les échantillons positifs (résultat en un jour contre 1 à 2 jours pour la norme ISO 6888-2).

La méthode 3M™ Petrifilm™ Staph Express a été **comparée** à la méthode **NF EN ISO 6888-2**.

Les résultats obtenus permettent de conclure que :

- la linéarité de la méthode alternative est satisfaisante,
- l'exactitude relative de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence est satisfaisante,
- le test montre une sélectivité et une spécificité satisfaisantes.

L'étude interlaboratoire a donné **des valeurs de répétabilité et de reproductibilité satisfaisantes**.

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 satisfaisante.
Les biais obtenus entre la méthode alternative et la méthode de référence, pour chacun des niveaux, varient entre (- 0,12 log) et (- 0,14 log).
La valeur du biais (alternative – référence) obtenue dans l'étude comparative était de l'ordre de (- 0,14 log).
- les valeurs de répétabilité varient de 0,15 à 0,11 log (UFC/ml) pour la méthode de référence et de 0,37 à 0,13 log (UFC/ml) pour la méthode alternative. Elles sont comparables entre les deux méthodes pour les deux niveaux supérieurs.
Les valeurs de répétabilité obtenues dans l'étude comparative étaient de l'ordre de 0,22 log pour la méthode de référence et de 0,23 log pour la méthode alternative.
- les valeurs de reproductibilité varient de 0,32 à 0,26 log (UFC/ml) pour la méthode de référence et de 0,55 à 0,16 log (UFC/ml) pour la méthode alternative. Elles sont comparables entre les deux méthodes pour tous les niveaux.

L'ensemble de ces résultats a conduit à la **validation AFNOR** selon le référentiel EN ISO 16140 du système 3M Petrifilm Staph Express system (STX) (attestation n° 3M 01/9-04/03 B), pour le dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase positive dans les produits d'alimentation humaine et les aliments pour animaux de compagnie, **pour une période de 4 ans**.

ANNEXES

ANNEXE A :

EXACTITUDE RELATIVE
REGRESSION

	Niveau	Méthode de référence				Méthode alternative				
		Rep.1	Rep.2	Mxi	sxi interne	Rep.1	Rep.2	Myi	syi interne	
PC	1	1,48	1,80	1,64041	0,23093	1,00	1,00	1,00000	0,00000	
	2	1,54	1,30	1,42255	0,17185	1,00	1,30	1,15051	0,21286	
	3	2,48	2,40	2,43753	0,05599	2,24	2,28	2,25909	0,03073	
	4	2,85	2,90	2,87409	0,04101	2,70	2,78	2,73856	0,05599	
	5	2,46	2,56	2,50948	0,06466	2,57	2,54	2,55489	0,02333	
	6	2,00	1,70	1,84949	0,21286	2,04	2,07	2,05517	0,02458	
	7	2,62	2,64	2,62823	0,01643	2,00	2,60	2,30103	0,42572	
	8	3,50	3,44	3,46967	0,03784	3,28	3,52	3,39759	0,17101	
	9	3,15	2,88	3,01059	0,19167	3,15	3,08	3,11265	0,04734	
	10	3,15	3,34	3,24388	0,13427	3,23	3,27	3,25041	0,02822	
	11	2,88	2,97	2,92325	0,06815	3,16	2,90	3,03291	0,18359	
	12	3,16	2,94	3,04953	0,16009	3,00	2,95	2,97071	0,03582	
	13	2,38	2,53	2,45725	0,10662	2,24	2,19	2,21321	0,03416	
	14	2,87	2,88	2,87505	0,00372	2,53	2,42	2,47391	0,07481	
	15	4,30	4,27	4,28410	0,02394	4,00	4,30	4,15051	0,21286	
	16	4,49	4,23	4,36091	0,18449	4,00	4,36	4,18086	0,25578	
	17	4,22	4,23	4,22397	0,00917	4,20	4,18	4,19011	0,01982	
	18	3,24	3,24	3,24304	0,00000	3,19	3,11	3,15277	0,05491	
	19	2,48	2,54	2,51386	0,04272	2,67	2,72	2,69832	0,03353	
	20	2,55	2,48	2,51340	0,05130	2,46	2,63	2,54723	0,11805	
	21	2,84	2,92	2,87734	0,05362	2,70	2,30	2,50000	0,28139	
	22	3,18	3,13	3,15321	0,03236	3,22	3,17	3,19354	0,03217	
	23	1,60	1,74	1,67121	0,09779	1,85	1,30	1,57306	0,38471	
	24	2,93	2,81	2,87117	0,08238	2,96	2,94	2,94747	0,01575	
PL	25	2,54	2,59	2,56807	0,03395	2,41	2,28	2,34330	0,08835	
	26	2,06	2,12	2,08775	0,04558	1,95	1,48	1,71568	0,33738	
	27	1,74	1,91	1,82480	0,12452	1,90	1,48	1,69011	0,30121	
	28	2,04	1,88	1,95642	0,11507	1,48	1,48	1,47712	0,00000	
	29	2,00	2,18	2,08805	0,12452	1,60	1,60	1,60206	0,00000	
	30	3,07	3,07	3,07255	0,00000	3,10	3,11	3,10934	0,00651	
	31	2,27	2,07	2,17146	0,13987	2,00	2,10	2,05237	0,07406	
	32	2,51	2,59	2,55046	0,05886	2,41	2,62	2,51357	0,15245	
	33	2,06	2,16	2,11036	0,07406	2,24	2,00	2,11868	0,16784	
	34	2,18	2,00	2,08805	0,12452	2,30	2,30	2,30103	0,00000	
	35	3,56	3,50	3,53167	0,04101	2,48	2,70	2,58805	0,15687	
	36	1,85	1,78	1,81162	0,04734	1,85	1,70	1,77203	0,10333	
	37	1,70	1,70	1,69897	0,00000	1,70	1,78	1,73856	0,05599	
	38	2,85	2,97	2,90928	0,07891	2,00	1,95	1,97712	0,03236	
	39	3,94	4,00	3,96817	0,04502	4,17	4,27	4,21711	0,06928	
	40	2,34	2,54	2,43860	0,14112	2,44	2,32	2,37803	0,08160	
	41	4,80	4,85	4,82720	0,03323	4,60	4,68	4,64247	0,05715	
	42	4,00	4,10	4,05237	0,07406	4,36	4,51	4,43573	0,11198	
	43	3,54	3,57	3,55773	0,01932	3,13	3,16	3,14871	0,01982	
	44	1,60	1,90	1,75257	0,21286	1,30	1,48	1,38908	0,12452	
	PP	45	1,18	1,40	1,28702	0,15687	1,00	1,00	1,00000	0,00000
		46	2,79	2,83	2,81239	0,03009	2,95	3,07	3,00783	0,08201
		47	1,00	1,65	1,32661	0,46189	2,00	2,00	2,00000	0,00000
		48	3,89	3,96	3,92332	0,04991	3,78	3,62	3,70302	0,11548
49		3,48	3,59	3,53206	0,07769	3,46	3,34	3,40129	0,08835	
50		1,00	1,48	1,23856	0,33738	1,70	1,48	1,58805	0,15687	
51		2,31	2,29	2,30092	0,01396	2,16	2,30	2,23188	0,09779	
52		1,85	1,78	1,81162	0,04734	1,78	1,78	1,77815	0,00000	
53		1,40	1,65	1,52558	0,18050	1,90	2,00	1,95154	0,06853	
54		1,40	1,74	1,56915	0,24213	1,00	1,78	1,38908	0,55024	
55		1,60	1,70	1,65051	0,06853	1,70	1,78	1,73856	0,05599	
56		3,48	3,40	3,43753	0,05599	3,42	3,34	3,37991	0,05811	
57		2,51	2,49	2,50250	0,01755	2,51	2,50	2,50879	0,00865	
58		2,48	2,50	2,48990	0,01807	2,53	2,32	2,42357	0,14600	
59		2,37	2,09	2,22704	0,19531	2,34	2,19	2,26394	0,10590	
60		1,54	1,48	1,51059	0,04734	1,60	1,00	1,30103	0,42572	
VEG	61	1,94	2,10	2,02053	0,11908	1,48	1,70	1,58805	0,15687	
	62	3,07	3,31	3,19167	0,16846	3,09	2,91	3,00090	0,12452	
	63	2,56	2,47	2,51285	0,05990	2,26	2,39	2,32480	0,09216	
	64	2,19	2,21	2,20147	0,01755	2,04	2,26	2,14871	0,15687	
	65	2,06	2,02	2,03741	0,02561	2,10	2,04	2,07126	0,04734	
	66	1,40	1,18	1,28702	0,15687	1,00	1,00	1,00000	0,00000	
	67	2,57	2,63	2,59606	0,04242	2,64	2,58	2,61085	0,04101	
	68	3,66	3,68	3,67033	0,01193	3,42	3,55	3,48534	0,09098	
	69	3,70	3,64	3,67362	0,04140	3,56	3,58	3,57126	0,01498	
	70	1,40	1,18	1,28702	0,15687	1,00	1,00	1,00000	0,00000	
	71	3,96	3,99	3,97546	0,01772	3,90	3,92	3,90789	0,01380	
	72	5,56	5,51	5,53202	0,03279	5,17	5,13	5,15129	0,02758	
	PAT	73	2,02	2,10	2,06202	0,06041	2,16	2,10	2,13373	0,04101
74		3,82	4,32	4,07058	0,35587	3,89	4,02	3,95555	0,09549	
75		4,70	4,57	4,63575	0,09552	4,48	4,27	4,37161	0,14921	
76		4,02	4,10	4,05905	0,05354	3,90	3,96	3,93301	0,04231	
77		3,80	3,78	3,79093	0,01807	3,71	3,75	3,72788	0,02872	
78		2,91	2,98	2,94632	0,04734	2,24	2,21	2,22562	0,01660	
79		3,71	3,78	3,74411	0,05277	3,09	3,04	3,06517	0,03362	
80		3,39	3,33	3,36080	0,04011	3,07	2,99	3,03027	0,05979	
81		2,48	2,48	2,47712	0,00000	2,64	2,77	2,70568	0,09311	
82		3,04	3,20	3,11868	0,11440	3,07	3,07	3,07255	0,00000	
ANX	83	4,31	4,40	4,35436	0,06162	4,24	4,21	4,22562	0,01660	
	84	4,32	4,34	4,32958	0,01307	4,16	4,24	4,20004	0,05277	
	85	1,48	1,60	1,53959	0,08835	1,60	1,00	1,30103	0,42572	
	86	2,53	2,55	2,53824	0,01617	2,00	1,85	1,92255	0,10953	
	87	3,64	3,68	3,65909	0,03365	2,88	2,93	2,90731	0,03454	
	88	1,48	1,18	1,32661	0,21286	1,70	1,60	1,65051	0,06853	
	89	2,75	2,80	2,77247	0,03534	2,53	2,53	2,52681	0,00000	
	90	3,81	3,85	3,83181	0,02672	3,34	3,34	3,33882	0,00000	
	91	3,73	3,69	3,70838	0,02458	3,26	3,28	3,27023	0,01498	
	92	5,52	5,63	5,57580	0,07764	5,08	5,14	5,11002	0,03898	
	93	4,47	4,46	4,46712	0,00476	4,12	4,11	4,11693	0,00853	
	94	3,02	3,03	3,02678	0,00525	3,04	3,07	3,05517	0,02458	
	95	4,06	3,97	4,01712	0,06162	3,89	3,88	3,88546	0,00363	

Médiane x	2,77247	0,05362
Moyenne x	2,83908	

Médiane y	2,54723	0,05599
Moyenne y	2,69593	

écart-type de répétabilité global	Srx	0,11738
écart-type de répétabilité robuste	Rob Swx	0,07950

Sry	0,14312
Rob Swy	0,08301

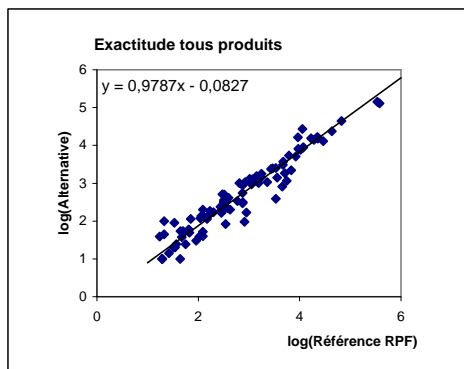
R	1,21925
Rob.R	1,04413

n =	2
q =	95
nq =	190

0,5 < R < 2	GMFR	Calcul sur les moyennes des deux méthodes
R > 2	OLS	
R < 0,5	OLS chgt	

Régression GMFR
Ecart-types globaux

Vxi	Vyi	
2,92692	5,75235	
4,04264	4,82192	
0,32562	0,38259	
0,00413	0,00677	
0,22145	0,04033	
2,00390	0,82175	
0,08918	0,49313	
0,79672	1,01391	
0,09557	0,34956	
0,34575	0,61568	
0,01882	0,26082	
0,11421	0,15229	
0,30296	0,46720	
0,00260	0,10418	
4,17675	4,27695	
4,66595	4,47549	
3,83591	4,46552	
0,32637	0,42043	
0,21336	0,00114	
0,21477	0,05816	
0,00580	0,15595	
0,19841	0,49627	
2,73739	2,66966	
0,00885	0,12679	
0,14804	0,25650	
1,13108	2,03559	
2,07301	2,11409	
1,57139	2,97098	
1,14360	2,39310	
0,10902	0,34186	
0,91100	0,83383	
0,17007	0,08975	
1,06755	0,69460	
1,14360	0,31189	
0,96105	0,04789	
2,11356	1,71784	
2,59969	1,83624	
0,01608	1,03442	
2,55170	4,63280	
0,34067	0,20877	
7,90639	7,58132	
2,94963	6,06635	
1,03329	0,41042	
2,40629	3,43123	
4,84241	5,75235	
0,00233	0,20128	
4,78849	0,96863	
2,35364	2,04182	
0,96648	1,00287	
5,23714	2,47942	
0,57943	0,44025	
2,11356	1,68463	
3,48316	1,11291	
3,28406	3,71849	
2,83006	1,83624	
0,71943	0,93904	
0,22688	0,07011	
0,24418	0,16967	
0,78732	0,38445	
3,53198	4,07272	
1,35421	2,47942	
0,27702	0,20151	
0,21644	0,28396	
0,81340	0,62350	
1,28600	0,78266	
4,84241	5,75235	
0,11991	0,01616	
1,38211	1,25461	
1,39465	1,53264	
4,84241	5,75235	
2,58304	2,93788	
14,50495	12,05840	
1,21129	0,63381	
3,15985	3,18239	
6,46516	5,63809	
2,97953	3,06253	
1,81236	2,13067	
0,02524	0,44266	
1,64096	0,27380	
0,54600	0,22714	
0,26203	0,00886	
0,16944	0,28369	
4,59598	4,68019	
4,44334	4,52751	
3,38514	4,07272	
0,18127	1,20823	
1,34598	0,09056	
4,62045	2,19048	
0,01012	0,05720	
1,97174	0,82661	
1,51198	0,65987	
14,98535	11,65721	
5,30109	4,03855	
0,07049	0,25871	
2,77938	2,82996	
Vx	Vy	Vxy
1,02170	0,97868	0,94846
Sx	Sy	
1,01079	0,98928	



Estimation des paramètres

sur les moyennes	
r =	0,96184
b =	0,97872
a =	-0,08273

Ecart-type résiduel par rapport aux points estimés de la régression

Sy:x = 0,387916365

yi estimés	résidus	Smy:x
1,52277	-0,52277	0,27430
1,30955	-0,15903	
2,30293	-0,04383	
2,73020	0,00836	
2,37335	0,18154	
1,72740	0,32777	
2,48957	-0,18854	
3,31310	0,08450	
2,86379	0,24886	
3,09211	0,15829	
2,77831	0,25460	
2,90190	0,06881	
2,32222	-0,10901	
2,73114	-0,25723	
4,11020	0,04032	
4,18537	-0,00450	
4,05134	0,13876	
3,09129	0,06148	
2,37763	0,32069	
2,37718	0,17005	
2,73337	-0,23337	
3,00338	0,19016	
1,55292	0,02015	
2,72733	0,22014	
2,43069	-0,08739	
1,96059	-0,24491	
1,70324	-0,01314	
1,83206	-0,35494	
1,96088	-0,35882	
2,92443	0,18491	
2,04252	0,00985	
2,41345	0,10012	
1,98272	0,13596	
1,96088	0,34015	
3,37378	-0,78574	
1,69034	0,08169	
1,58008	0,15848	
2,76463	-0,78751	
3,80099	0,41613	
2,30398	0,07405	
4,64174	0,00073	
3,88340	0,55233	
3,39929	-0,25057	
1,63255	-0,24347	
1,17690	-0,17690	
2,66981	0,33801	
1,21565	0,78435	
3,75709	-0,05407	
3,37416	0,02713	
1,12947	0,45857	
2,16922	0,06266	
1,69034	0,08781	
1,41038	0,54116	
1,45303	-0,06395	
1,53266	0,20590	
3,28164	0,09827	
2,36651	0,14228	
2,35418	0,06939	
2,09692	0,16702	
1,39572	-0,09469	
1,89480	-0,30676	
3,04102	-0,04012	
2,37664	-0,05184	
2,07189	0,07682	
1,91132	0,15994	
1,17690	-0,17690	
2,45808	0,15277	
3,50949	-0,02415	
3,51271	0,05855	
1,17690	-0,17690	
3,80813	0,09976	
5,33156	-0,18026	
1,93541	0,19832	
3,90122	0,05432	
4,45436	-0,08275	
3,88994	0,04307	
3,62752	0,10036	
2,80089	-0,57527	
3,58170	-0,51653	
3,20655	-0,17628	
2,34168	0,36401	
2,96958	0,10297	
4,17897	0,04665	
4,15471	0,04534	
1,42410	-0,12307	
2,40149	-0,47894	
3,49849	-0,59118	
1,21565	0,43487	
2,63074	-0,10393	
3,66753	-0,32871	
3,54673	-0,27650	
5,37441	-0,26439	
4,28933	-0,17240	
2,87963	0,17554	
3,84890	0,03655	

Ecart-types des paramètres

S(a)	0,08430	t(a)	0,98133	p(a=0)	0,32898
S(b)	0,02799	t(b)	0,76037	p(b=1)	0,44896

Répétabilité
= 2,8 Sr

	Méthode de référence	Méthode alternative
Sr	0,11738	0,14312
r	0,32866	0,40072
Rob.Sr	0,07950	0,08301
Rob.r	0,22261	0,23243

Biais

Differences		
-0,64041		
-0,27203		
-0,17844		
-0,13553		
0,04541		
0,20568		
-0,32720		
-0,07207		
0,10206		
0,00653		
0,10966		
-0,07882		
-0,24404		
-0,40115		
-0,13359		
-0,18004		
-0,03386		
-0,09026		
0,18446		
0,03383		
-0,37734		
0,04033		
-0,09815		
0,07630		
-0,22478		
-0,37206		
-0,13470		
-0,47930		
-0,48599		
0,03679		
-0,11909		
-0,03689		
0,00832		
0,21298		
-0,94363		
-0,03959		
0,03959		
-0,93215		
0,24895		
-0,06057		
-0,18473		
0,38336		
-0,40902		
-0,36350		
-0,28702		
0,19543		
0,67339		
-0,22029		
-0,13077		
0,34949		
-0,06904		
-0,03347		
0,42597		
-0,18008		
0,08805		
-0,05762		
0,00629		
-0,06633		
0,03689		
-0,20956		
-0,43249		
-0,19077		
-0,18804		
-0,05276		
0,03385		
-0,28702		
0,01479		
-0,18499		
-0,10236		
-0,28702		
-0,06757		
-0,38073		
0,07171		
-0,11504		
-0,26413		
-0,12604		
-0,06305		
-0,72070		
-0,67895		
-0,33053		
0,22856		
-0,04613		
-0,12874		
-0,12953		
-0,23856		
-0,61569		
-0,75178		
0,32391		
-0,24566		
-0,49299		
-0,43815		
-0,46578		
-0,35020		
0,02839		
-0,13167		
D =	-0,14315	moyenne
D =	-0,12604	médiane

ANNEXE B :

RESULTATS DE SPECIFICITE/SELECTIVITE

Souches	Origine	Couleur des colonies après incubation	Aspect des colonies après révélation sur disque
<i>Staphylococcus aureus</i> colonies caractéristiques sur gélose Baird Parker	ATCC 6538	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	ATCC 9144	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit laitier	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Lait cru	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Fromage au lait cru	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit laitier	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit laitier	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Fromage au lait cru	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Fromage au lait cru	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Chipolatas	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	CIP 7625	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Pâtisserie	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Pâtisserie	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Saumon fumé	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
Lait	rose violet	colonies entourées d'une zone rose	
CIP 53154	rose violet	colonies entourées d'une zone rose	
Filet d'empereur	rose violet	colonies entourées d'une zone rose	
Salade de pâtes	rose violet	colonies entourées d'une zone rose	
Tartine capagnarde	rose violet	colonies entourées d'une zone rose	
<i>Staphylococcus aureus</i> colonies non caractéristiques sur gélose Baird Parker	Produit carné	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Foie de volaille	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
	Lait de chèvre	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.hyicus</i>	Collection	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.hyicus</i>	Produit carné	noire	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.hyicus</i>	Produit carné (E)	noire	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.hyicus</i>	Produit carné (G)	noire	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.hyicus</i>	Collection (SW)	noire	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.intermedius</i>	Collection	rose violet	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.intermedius</i>	Collection	violet foncé	colonies entourées d'une zone rose
<i>St.xylosus</i>	Munster	noire	pas de zone rose
<i>St.epidermidis</i>	Produit laitier	pas de colonie	/
<i>St.epidermidis</i>	ATCC 12228	pas de colonie	/
<i>St.scuiri</i>	Collection	pas de colonie	/
<i>St.saprophyticus</i>	Collection	noire	pas de zone rose
<i>St.cohnii</i>	Saumon fumé	pas de colonie	/
<i>St.epidermidis</i>	Clinique	pas de colonie	/
<i>St.epidermidis</i>	Saumon fumé	pas de colonie	/
<i>St.epidermidis</i>	Collection	pas de colonie	/
<i>St.simulans</i>	Salade composée	noire	pas de zone rose
<i>St.warneri</i>	Jambon braisé	pas de colonie	/
<i>St.warneri</i>	Lard fumé	pas de colonie	/
<i>St.warneri</i>	Jambon de Bayonne	pas de colonie	/
<i>St.xylosus</i>	Salade composée	noire	pas de zone rose
<i>St.xylosus</i>	Abats	noire	pas de zone rose
Autres genres			
<i>Listeria innocua</i>	Poisson fumé	bleue	pas de zone rose
<i>Enterococcus faecalis</i>	Produit carné	pas de colonie	/
<i>Micrococcus spp</i>	Végétaux	pas de colonie	/
<i>E.coli</i>	Produit laitier	pas de colonie	/
<i>Micrococcus spp</i>	Environnement	pas de colonie	/
<i>Micrococcus luteus</i>	Environnement	pas de colonie	/
<i>Micrococcus roseus</i>	Environnement	pas de colonie	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	Œuf	turquoise	pas de zone rose
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC 3286	turquoise	pas de zone rose
<i>Enterococcus faecium</i>	CIP 5433	pas de colonie	/
<i>Enterococcus durans</i>	Produit carné	pas de colonie	/