

**OXOID THERMO FISHER SCIENTIFIC**  
6 route de Paisy  
69571 DARDILLY

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

**Rapport de synthèse**

**Validation ISO 16140 de  
la méthode *Salmonella* Precis™**  
*(Etudes préliminaire et collaborative  
conduites selon la norme NF EN ISO 16140)*

Méthode qualitative

**Confidentiel**

Ce rapport comprend 29 pages dont 3 annexes.

La reproduction de ce rapport n'est autorisée que sous sa forme intégrale.

**SYNTHESE *Salmonella* Precis (Version 2)**

**8 février 2008**

**ADRIA DEVELOPPEMENT**

Creac'h Gwen - F. 29196 QUIMPER Cedex - Tél. (33) 02.98.10.18.18 - Fax (33) 02.98.10.18.08

E-mail : [adria.developpement@adria.tm.fr](mailto:adria.developpement@adria.tm.fr) - Site web : <http://www.adria.tm.fr> - Site réservé adhérents : <http://www.clubiaa.net>  
ASSOCIATION LOI DE 1901 - N° SIRET 306 964 271 00036 - N° EXISTENCE 532900006329 - N° TVA FR4530696427100036

## Sommaire

<b>1</b>	<b>OBJET</b> _____	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCTION</b> _____	<b>2</b>
	<b>2.1 Référentiel de validation</b> _____	<b>2</b>
	<b>2.2 Protocole de la méthode alternative</b> _____	<b>2</b>
	<b>2.3 Domaine d'application demandé</b> _____	<b>3</b>
	<b>2.4 Méthode de référence</b> _____	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>ETUDE COMPARATIVE DES METHODES</b> _____	<b>3</b>
	<b>3.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative</b> _____	<b>3</b>
	<b>3.2 Niveau de détection relatif</b> _____	<b>9</b>
	<b>3.3 Inclusivité / exclusivité</b> _____	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>ETUDE INTERLABORATOIRES</b> _____	<b>12</b>
	<b>4.1 Mise en oeuvre</b> _____	<b>12</b>
	<b>4.2 Contrôle des paramètres expérimentaux</b> _____	<b>12</b>
	<b>4.3 Résultats des analyses</b> _____	<b>14</b>
	<b>4.4 Calculs</b> _____	<b>15</b>
	<b>4.5 Interprétation</b> _____	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>PRATICABILITE</b> _____	<b>19</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSION</b> _____	<b>22</b>
	<input type="checkbox"/> <i>Annexe 1 - Méthode alternative</i> _____	<i>23</i>
	<input type="checkbox"/> <i>Annexe 2 - Méthode de référence</i> _____	<i>24</i>
	<input type="checkbox"/> <i>Annexe 3 - Résultats bruts de l'inclusivité et de l'exclusivité</i> _____	<i>25</i>

## Avant Propos

L'accréditation du COFRAC atteste de la compétence des laboratoires pour les seuls essais couverts par l'accréditation qui sont identifiés par le symbole<sup>♦</sup>.

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 :** SOCIETE OXOID  
6 route de Paisy  
69571 DARDILLY
  
- ✓ **Laboratoire expert :** ADRIA Développement  
ZA Creac'h Gwen  
29196 QUIMPER Cedex
  
- ✓ **Méthode à valider :** Méthode Salmonella Precis<sup>TM</sup> pour la détection des salmonelles
  
- ✓ **Référentiel de validation :** Norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003) : microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives
  
- ✓ **Méthode de référence<sup>♦</sup> :** Norme ISO 6579 (2002) : méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella* spp.
  
- ✓ **Etendue de la validation :** Tous produits d'alimentation animale et humaine  
Echantillons de l'environnement (à l'exception de l'environnement d'élevage)

---

<sup>♦</sup> ISO 6579 : essai effectué sous le couvert de l'accréditation par le laboratoire expert

**Les modifications apportées au rapport de synthèse portent sur le nom de la méthode (Méthode *Salmonella* Precis™) et du milieu (milieu Brilliance™ *Salmonella*).**

## **1 OBJET**

---

La Société Oxoid Thermo-Fisher souhaite obtenir la validation, selon le référentiel ISO 16140, de la méthode *Salmonella* Precis™ pour la recherche de *Salmonella spp.* dans les produits d'alimentation humaine et animale, ainsi que dans les échantillons de l'environnement.

## **2 INTRODUCTION**

---

### **2.1 Référentiel de validation**

Le référentiel de validation utilisé est la norme NF EN ISO 16140 (octobre 2003) : protocole pour la validation des méthodes alternatives.

### **2.2 Protocole de la méthode alternative**

La méthode *Salmonella* Precis™ comprend :

- une étape d'enrichissement dans le bouillon One Broth *Salmonella* incubé à 42°C pendant 16 à 20h,
- un isolement sur milieu Brilliance™ *Salmonella*.

Deux options de confirmation ont été testées :

- confirmation par les tests classiques décrits dans la méthode de référence,
- réalisation d'un test latex Salmonelle.

L'option de confirmation par test latex a été retenue pour l'étude interlaboratoire.

Le protocole est donné en annexe 1.

La Société Oxoid Thermo Fisher Scientific souhaite tester la conservation du bouillon One Broth *Salmonella* à 2 - 8°C pendant 72 h.

## 2.3 Domaine d'application demandé

Tous produits d'alimentation animale et humaine  
Echantillons de l'environnement (à l'exception de l'environnement d'élevage)

## 2.4 Méthode de référence

La méthode de référence est la norme NF EN ISO 6579 (2002) : méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella*. Le protocole est schématisé en Annexe 2.

## 3 ETUDE COMPARATIVE DES METHODES

---

### 3.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative

*L'exactitude est l'écart entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée.*

*La spécificité relative est définie comme le degré auquel la méthode est affectée (ou non) par les autres composants dans un échantillon en contenant plusieurs. C'est la capacité de la méthode à mesurer avec exactitude un analyte donné, ou sa quantité, dans l'échantillon sans qu'il y ait d'interférence avec les composants non ciblés, tels un effet de la matrice ou un bruit de fond.*

*La sensibilité relative est définie comme la capacité de la méthode alternative à détecter deux quantités différentes d'analyte qui ont été mesurées avec la méthode de référence en utilisant une matrice donnée sur toute l'étendue de mesure. C'est la variation de quantité minimale (accroissement de la concentration d'analyte x) qui donne une variation significative du signal mesuré (réponse y).*

#### 3.1.1 Nombre et nature des échantillons

424 échantillons ont été analysés et sont répartis de la façon suivante :

Catégories	Positifs	Négatifs	Total
Produits carnés	33	33	66
Produits laitiers	35	31	66
Végétaux, produits de la mer, divers	32	42	74
Ovoproduits	32	30	62
Alimentation animale	45	42	87
Echantillons de l'environnement	39	30	69
<b>TOTAL</b>	<b>216</b>	<b>208</b>	<b>424</b>

#### 3.1.2 Contamination artificielle des échantillons

Des contaminations artificielles ont été réalisées par des inoculations ou des contaminations croisées.

162 échantillons ont été contaminés artificiellement, 144 ont donné un résultat positif par l'une ou l'autre des méthodes. Les échantillons naturellement contaminés représentent donc 33,3 % des échantillons positifs.

### 3.1.3 Protocoles de confirmation

Deux protocoles de confirmation ont été testés :

- réalisation du test latex, directement sur une colonie isolée sur milieu Brilliance™ *Salmonella*,
- confirmation par les tests classiques décrits dans la méthode de référence.

### 3.1.4 Résultats des essais

Afin de tenir compte des deux protocoles de confirmation, deux interprétations ont été réalisées :

**Tableau 1 - Couples de résultats des méthodes de référence et alternative**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 178 <sup>(a)</sup>	Déviations positives (R-/A+) PD = 18
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 20	Accord négatif (A-/R-) NA = 208 PPNC = 5 <sup>(b) (c)</sup>

A+ = positifs confirmés

A- = négatifs immédiats **et** négatifs après confirmation quand présomptifs positifs

PPNC = positifs présomptifs non confirmés

FP = faux positifs

(a) Deux échantillons, 1508 et 1509, ont donné des colonies typiques sur milieu Brilliance™ *Salmonella*, confirmées uniquement par les tests classiques de la méthode de référence

(b)& (c) Des colonies violacées pâles ou grisées ont été obtenues sur milieu Brilliance™ *Salmonella* pour trois échantillons (1126, 1255 et 1263) ; les colonies ont été identifiées à *Citrobacter koseri* pour l'échantillon 1255, à *Enterobacter cloacae* pour les échantillons 1126 et 1263. Les colonies isolées pour l'échantillon 1126 ont montré un test latex positif.

Des petites colonies violacées ont été obtenues pour l'échantillon 1127, mais non identifiées à *Salmonella*.

Pour un échantillon (échantillon 1264), une colonie suspecte non isolée a été obtenue sur milieu Brilliance™ *Salmonella*, elle s'est révélée négative après isolement.

**Résultats par catégorie d'échantillons****Tableau 2 - Produits carnés**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 31	Déviations positive (R-/A+) PD = 1
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 1	Accord négatif (A-/R-) NA = 33

**Tableau 3 - Produits laitiers**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 28	Déviations positive (R-/A+) PD = 4
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 3	Accord négatif (A-/R-) NA = 31

**Tableau 4 - Ovoproduits**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 28	Déviations positive (R-/A+) PD = 1
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 3	Accord négatif (A-/R-) NA = 42

**Tableau 5 - Végétaux, produits de la pêche et divers**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 29 *	Déviations positive (R-/A+) PD = 0
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 3	Accord négatif (A-/R-) NA = 30

\* Deux échantillons (n° 1508 et 1509) ont montré des colonies typiques sur milieu Brilliance™ *Salmonella*, confirmées uniquement par les tests classiques de la méthode de référence.

**Tableau 6 - Produits d'alimentation animale**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 29	Déviations positives (R-/A+) PD = 10
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 6	Accord négatif (A-/R-) NA = 42

**Tableau 7 - Echantillons de l'environnement**

Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) PA = 33	Déviations positives (R-/A+) PD = 2
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) ND = 4	Accord négatif (A-/R-) NA = 30

**Tableau 8 - Calcul de l'exactitude relative (AC), de la sensibilité relative (SE) et de la spécificité relative (SP)**

Matrices	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA)/N]	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA/N+]	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA/N-]
Produits carnés	31	33	1	1	66	97,0	32	96,9	34	97,1
Produits laitiers	28	31	3	4	66	89,4	31	90,3	35	88,6
Produits de la pêche, végétaux et divers	29	30	3	0	62	95,2	32	90,6	30	100,0
Ovoproduits	28	42	3	1	74	94,6	31	90,3	43	97,7
Alimentation animale	29	42	6	10	87	81,6	35	82,9	52	80,8
Environnement	33	30	4	2	69	91,3	37	89,2	32	93,8
<b>TOTAL</b>	<b>178</b>	<b>208</b>	<b>20</b>	<b>18</b>	<b>424</b>	<b>91,0</b>	<b>198</b>	<b>89,9</b>	<b>226</b>	<b>92,0</b>

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

Les valeurs en pourcentage calculées pour ces trois critères pour la méthode alternative sont les suivantes :

Exactitude relative	AC = 91,0
Spécificité relative	SP = 92,0
Sensibilité relative	SE = 89,9

La sensibilité des deux méthodes, en tenant compte des positifs supplémentaires obtenus pour la méthode alternative, est la suivante :

Méthode alternative	90,7
Méthode de référence	91,7

### 3.1.6 Analyse des discordants

Le nombre de discordants entre la méthode de référence et la méthode alternative est de 38.

$Y = PD + ND$	$18 + 20 = 38$
$Y > 22$	Utilisation du test de Mc Nemar
$d =  PD - ND $ d Tableau	$ 18 - 20  = 2$ $\chi^2 = d^2/Y = 2^2/38 = 0,105$ $0,105 < 3,841$
<b>Conclusion</b>	<b>Les deux méthodes ne sont pas différentes à <math>\alpha &lt; 0,05</math>.</b>

Les échantillons discordants sont répartis comme suit :

#### - Déviations négatives : 20

Catégorie	N° éch.	Produit	Type de contamination		Souche inoculée
			Naturelle	Artificielle	
<b>Produits carnés</b> (1)	1921	Viande de bœuf crue	X		
<b>Produits laitiers</b> (3)	1184	Poudre de lait		X	S. Newington 26
	1275	Saint Nectaire		X	S. Montevideo 305
	2125	Lait cru		X	S. Anatum Ad 298
<b>Ovoproduits</b> (3)	1479	Coule d'œuf crue	X		
	1484	Mayonnaise	X		
	1512	Flan		X	S. Enteritidis
<b>Produits de la pêche, végétaux, divers</b> (3)	1268	Saumon fumé		X	S. Anatum Ad 298
	1270	Filet de saumon		X	S. Anatum Ad 298
	1609	Duo ananas carottes au surimi		X	S. Brandenburg Ad 351
<b>Produits d'alimentation animale</b> (6)	1099	Protéines déshydratées de volaille	X		
	1104	Protéines déshydratées de volaille	X		
	1175	Protéines déshydratées de volaille	X		
	1178	Protéines déshydratées de volaille	X		
	1497	Croquettes pour chat		X	S. Livingstone F104
	1498	Croquettes pour chien		X	S. Livingstone F104
<b>Echantillons de l'environnement</b> (4)	1590	Chiffonnette retournement palettes	X		
	1818	Eau poste vrac		X	S. Newport 586
	1952	Chiffonnette table préparation		X	S. Tennessee A00E006
	1955	Chiffonnette mur local poubelle	X		

## - Déviations positives : 18

Catégorie	N° éch.	Produit	Type de contamination		Souche inoculée
			Naturelle	Artificielle	
Produits carnés (1)	1763	Viande blanche	X		
Produits laitiers (4)	1259	Lait cru	X		
	1271	Lait cru		X	S. Typhimurium 305
	1277	Chèvre au lait cru		X	S. Montevideo 305
	1854	Lait cru		X	S. meleagridis 505
Ovoproduits (1)	112	Mayonnaise	X		
Produits d'alimentation animale (10)	1102	Protéines de volaille déshydratées	X		
	1171	Protéines de volaille déshydratées	X		
	1173	Protéines de volaille déshydratées	X		
	1174	Protéines de volaille déshydratées	X		
	1193	Morceaux de poule	X		
	1493	Croquettes pour chien	X		
	1499	Graines pour oiseaux		X	S. Livingstone F104
	1602	Croquettes pour chien	X		
	1754	Protéines de volaille déshydratées	X		
	1876	Farine de viande	X		
Echantillons de l'environnement (2)	1949	Chiffonnette étagère salle arôme épices		X	S. Panama 8
	1950	Chiffonnette étagère chambre froide matières premières		X	S. Panama 8

Les enrichissements sont différents entre la méthode alternative et la méthode de référence: milieu One Broth *Salmonella* pour la méthode alternative et utilisation de l'EPT pour la méthode de référence. Ainsi, une répartition homogène d'un aliment faiblement contaminé n'est pas assurée entre les deux sacs d'enrichissement. Ceci a probablement été à l'origine de la majeure partie des résultats discordants observés entre les deux méthodes. Sur 40 résultats discordants, 21 ont été obtenus sur des échantillons naturellement contaminés, probablement très faiblement contaminés.

Les résultats obtenus par les deux méthodes de confirmation sont identiques, à l'exception de deux échantillons (1508 et 1509) inoculés par *Salmonella arizonae* Ad 478 qui n'ont pas été confirmés positifs par le test latex, contrairement aux tests classiques.

### **3.1.7 Effet de la conservation des bouillons One Broth Salmonella 72 h à 4°C**

Aucun changement de résultat n'a été observé après conservation du bouillon One Broth *Salmonella* 72 h à 4°C.

## **3.2 Niveau de détection relatif**

*Le niveau de détection relatif correspond au nombre le plus petit de micro-organismes cultivables qu'il est possible de détecter dans l'échantillon, avec une probabilité de 50 %, à l'aide des méthodes alternative et de référence.*

### **3.2.1 Matrices utilisées**

Cette étude a pour objectif de déterminer les quantités minimales de *Salmonella spp.* détectables dans la matrice alimentaire et de les comparer à celles obtenues par la méthode de référence.

Les limites de détection ont été définies par l'analyse du couple (matrice / souche) à quatre niveaux. Six réplicats de chaque condition ont été réalisés.

Les matrices testées étaient les suivantes :

- escalope de dinde crue / *S. typhimurium* Souche 25 (essais réalisés à l'ASEPT)
- salade / *S. enteritidis* Souche 17 (essais réalisés à l'ASEPT)
- coule d'œuf / *Salmonella enteritidis* 2532
- lait cru / *S. anatum* Souche 25 (essais réalisés à l'ASEPT)
- croquettes pour chien / *S. anatum* Souche 1 (essais réalisés à l'ASEPT)
- eau de process / *S. give* Souche 21 (essais réalisés à l'ASEPT).

### **3.2.2 Protocole de contamination**

Les contaminations et les dénombrements ont été réalisés selon le protocole décrit, pour les faibles taux d'inoculation, dans les exigences relatives aux études préliminaires et collaboratives.

Les bouillons d'enrichissement étant différents pour la méthode de référence et la méthode alternative, 12 sachets ont été préparés par taux.

### 3.2.3 Résultats

**Tableau 9 - Valeurs des niveaux de détection relatifs**

Couples (souche, matrice)	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g ou 25 ml) selon le test de Spearman-Kärber <sup>1</sup>		
	Méthode de référence	Méthode alternative (Latex)	Méthode alternative (Isolement)
Escalope de dinde crue / <i>Salmonella typhimurium</i>	0,3 [0,1;0,7]	0,5 [0,3;0,9]	0,5 [0,3;0,9]
Lait cru / <i>Salmonella anatum</i>	0,4 [0,3;0,7]	0,5 [0,3;0,8]	0,5 [0,3;0,8]
Salade / <i>Salmonella enteritidis</i>	0,1 [0,0 ;0,5]	0,1 [0,4;1,2]	0,4 [0,1;1,2]
Coule d'œuf / <i>Salmonella enteritidis</i> 2532	0,4 [0,2;1,1]	0,4 [0,2;1,0]	0,4 [0,2;1,0]
Croquettes pour chien / <i>Salmonella anatum</i>	0,3 [0,1;0,7]	0,2 [0,1;0,4]	0,2 [0,1;0,4]
Eau de process / <i>Salmonella give</i>	0,7 [0,3;1,8]	0,4 [0,2;1,4]	0,4 [0,2;1,4]

### 3.2.4 Conclusion

Les limites de détection de la méthode de référence et de la méthode alternative sont équivalentes, quelle que soit la technique de confirmation utilisée. Elles varient de 0,1 à 1,8 UFC/25 g pour la méthode de référence et de 0,1 à 1,4 UFC/25 g pour la méthode alternative.

## 3.3 Inclusivité / exclusivité

*L'inclusivité est la capacité de la méthode alternative à détecter l'analyte cible à partir d'un large éventail de souches.*

*L'exclusivité est l'absence d'interférences par un éventail approprié de souches non cibles de la méthode alternative.*

### 3.3.1 Protocoles d'essai

**Protocole pour l'inclusivité :** 53 souches *Salmonella* ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI à 37°C. Les souches ont été inoculées à un taux compris entre 10 et 100 cellules pour 225 ml de bouillon One Broth *Salmonella*. Le protocole complet de la méthode rapide *Salmonella* a ensuite été appliqué.

<sup>1</sup> "Hitchins A. Proposed Use of a 50 % Limit of Detection Value in Defining Uncertainty Limits in the Validation of Presence-Absence Microbial Detection Methods, Draft 10th December, 2003".

**Protocole pour l'exclusivité** : 40 souches négatives ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI à 37°C. Les souches ont ensuite été inoculées à un taux de  $10^5$  UFC/225 ml d'eau peptonée tamponnée. Le protocole complet de la méthode rapide Salmonelle a ensuite été appliqué.

### 3.3.2 Résultats

Les résultats bruts sont donnés en annexe 3.

### 3.3.3 Conclusion

#### - Inclusivité

Toutes les souches testées ont donné des colonies caractéristiques sur milieu Brilliance™ *Salmonella*, à l'exception d'une souche *Salmonella Dublin* qui ne s'est pas développée en bouillon One Broth *Salmonella* (*Salmonella Dublin* adria 40).

Quatre souches *Salmonella Dublin* sur 5 testées montrent des colonies faiblement caractéristiques sur milieu Brilliance™ *Salmonella*. La souche *Salmonella binza* testée présente des colonies de petite taille par rapport à celles généralement observées. Toutes les souches de *Salmonella dublin* testées ont donné une agglutination au test latex.

Une réaction d'agglutination fine est observée pour une souche de *Salmonella diarizonae*.

#### - Exclusivité

Sur les 40 souches testées, deux souches (*Citrobacter diversus* adria 40 et *Enterobacter sakazakii* adria 95) ont donné des colonies violacées sur milieu Brilliance™ *Salmonella*, mais ces deux souches donnent une réaction négative au test latex.

Une souche *Enterobacter cloacae* ayant montré des colonies plus ou moins caractéristiques sur milieu Brilliance™ *Salmonella* avec une réaction latex positive, 10 autres souches ont été testées et ont donné des colonies atypiques turquoise sur milieu Brilliance™ *Salmonella*.

## 4 ETUDE INTERLABORATOIRES

---

### 4.1 Mise en oeuvre

Treize laboratoires ont participé à l'étude qui a porté sur du lait pasteurisé demi-écrémé, inoculé par *Salmonella typhimurium* 305..

Tous les échantillons ont été répartis par le laboratoire expert en flacons stériles, à raison de 25 ml par flacon, avant d'être contaminés.

Les flacons de lait ont été inoculés individuellement à raison de 16 flacons par taux et par laboratoire (8 flacons pour la méthode de référence et 8 flacons pour la méthode alternative). Ainsi, chaque laboratoire a reçu 48 flacons à analyser.

Les réactifs nécessaires à la mise en oeuvre de la méthode alternative et de la méthode de référence ont été fournis par la Société OXOID.

Les instructions détaillées ont été transmises aux laboratoires par le laboratoire expert.

### 4.2 Contrôle des paramètres expérimentaux

#### 4.2.1 **Taux de contamination avant ensemencement, taux obtenus après contamination artificielle et stabilité des échantillons**

✓ *Avant ensemencement*

La recherche de bactéries cibles dans la matrice a été réalisée sur cinq prélèvements afin de s'assurer de l'absence de ces bactéries.

✓ *Taux obtenus après contamination artificielle*

Les taux de contamination obtenus dans la matrice et les estimations de précision sont donnés dans le tableau suivant :

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (b/25 ml)	Taux réel (b/25 ml d'échantillon)	Estimation de la limite inférieure de la contamination par 25 ml d'échantillon	Estimation de la limite supérieure de la contamination par 25 ml d'échantillon
Niveau 0	1 - 6 - 8 - 15 - 17 - 18 - 20 - 24	/	/	/	/
Niveau bas	2 - 5 - 9 - 10 - 13 - 14 - 19 - 23	5	5,4	4,7	6,2
Niveau haut	3 - 4 - 7 - 11 - 12 - 16 - 21 - 22	25	23	20	26

✓ *Stabilité des échantillons*

Le dénombrement a été réalisé sur 5 ml de lait pour le taux d'inoculation fort, sur trois flacons. Une recherche a été réalisée pour le taux d'inoculation faible sur trois échantillons. Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Jour	UFC/25 ml (XLD)			Recherche/25 ml		
	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3
J0	10	15	15	+	+	+
J1	15	20	20	+	+	+
J2	15	20	20	+	+	+

Aucune évolution du taux d'inoculation n'a été notée.

#### **4.2.2 Température relevée au cours du transport, température à réception et délais de réception**

Les températures mesurées au cours du transport à réception, ainsi que la date de réception des échantillons sont données dans le tableau 10.

**Tableau 10 - Température des échantillons à réception**

Laboratoires	Température relevée par le thermobouton (°C)	Température mesurée à réception (°C)	Date de réception des échantillons
A	1,5	2,6	J1
B	3,0	7,5	J1
C	0,5	4,5	J1
D	1,5	8,5	J1
E	2,5	4,0	J1
F	2,5	6,6	J1
G	Lecture impossible	3,4	J1
H	2,5	5,6	J1
I	3,0	3,0	J1
J	1,0	3,8	J1
K	3,0	4,8	J1
L	Lecture impossible	3,9	J1
M	2,0	3,9	J1

### 4.2.3 Conclusion

Aucune anomalie n'a été observée pendant le transport ; la température mesurée pendant le transport était comprise entre 0,5 et 6,0°C.

Le laboratoire D a mesuré une température à réception de 8,5°C mais le relevé du thermobouton a donné une température de 1,5°C avant ouverture du colis.

## 4.3 Résultats des analyses

### 4.3.1 Dénombrement de la flore aérobie mésophile

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile de la matrice a été effectué sur un échantillon selon la méthode ISO 4833. Le résultat varie entre  $5,0 \cdot 10^2$  et  $3,0 \cdot 10^7$  UFC/ml.

### 4.3.2 Résultats obtenus par le laboratoire expert

Tous les échantillons inoculés ont été détectés par la méthode de référence. Un échantillon inoculé au faible taux (N19) n'a pas été détecté par la méthode alternative. Il est à noter que les bouillons d'enrichissement sont différents entre les deux méthodes.

### 4.3.3 Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Sur treize laboratoires ayant participé à l'étude, dix laboratoires ont obtenu les résultats attendus.

Le laboratoire G a dilué par erreur un échantillon (G14) destiné à l'analyse par la méthode alternative en eau peptonée tamponnée. Le laboratoire a ensuite effectué une dilution au 1/100 à partir de la première solution en EPT en milieu One Broth *Salmonella*. Le résultat obtenu pour cet échantillon s'est révélé négatif ; cet échantillon n'a pas été pris en compte dans l'interprétation.

Le laboratoire D a trouvé un échantillon non inoculé positif par la méthode alternative. Il est à noter que seules deux colonies caractéristiques identifiées comme *Salmonella* ont été retrouvées sur milieu Brilliance™ *Salmonella*. Il s'agit donc probablement d'une intercontamination au moment de l'isolement. Une deuxième analyse à partir du bouillon One Broth *Salmonella* a donné un résultat négatif.

Le laboratoire K a obtenu un résultat positif en méthode de référence pour quatre échantillons non inoculés ; ce résultat a été confirmé une seconde fois.

Les résultats de douze laboratoires ont été exploités ; les résultats du laboratoire K ont été écartés en raison d'une intercontamination probable.

## 4.4 Calculs

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

Le pourcentage de spécificité, pour le niveau L0 et pour chaque méthode, est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$SP = \left[ 1 - \left( \frac{FP}{N-} \right) \times 100\% \right]$$

avec : N- = nombre total de tous les essais L0  
FP = nombre de faux positifs

Le pourcentage de sensibilité, pour chaque niveau de contamination positif et pour chaque méthode, est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$SE = \frac{TP}{N+} \times 100\%$$

avec : N+ = nombre total de tous les essais L1 ou L2

TP = nombre de vrais positifs

Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Niveau	Méthode de référence		Méthode alternative	
	SP/SE	LCL%	SP/SE	LCL%
L0	SP % = 100,0	98	SP % = 99,0	98
L1	SE % = 100,0	98	SE % = 100,0	98
L2	SE % = 100,0	98	SE % = 100,0	98
L1+L2	SE % = 100,0	98	SE % = 100,0	98

#### 4.4.2 Calcul de l'exactitude relative (AC)

Les résultats pour tous niveaux confondus sont donnés ci-après :

**Tableau 11 - Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence dans le cadre de l'étude interlaboratoire**

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 191	PD = 1	192
-	ND = 0	NA = 95	95
<b>Total</b>	N+ = 191	N- = 96	N = 287

L'exactitude relative (AC), exprimée en pourcentage, est calculée à l'aide de l'équation suivante :  $AC = \frac{(PA + NA)}{N} \times 100\%$

avec : N = nombre d'échantillons soumis à essai

PA = nombre d'accords positifs

NA = nombre d'accords négatifs

Les valeurs d'exactitude de la méthode alternative par rapport à la méthode de référence ont été calculées pour chacun des niveaux et figurent dans les tableaux ci-après :

Niveau	AC %	LCL %
L0	99	98
L1	100	98
L2	100	98
L1 + L2	100	98
Total	99,7	98

#### 4.4.3 Etude des résultats discordants

$$y = PD + ND = 1$$

$$y < 6$$

Aucun test statistique n'est appliqué.

## 4.5 Interprétation

### 4.5.1 Comparaison des valeurs d'exactitude relative, de spécificité et de sensibilité

Les valeurs obtenues dans les deux parties de l'étude de validation (étude comparative des méthodes et étude interlaboratoire) sont reportées dans le tableau 12 :

**Tableau 12 - Comparaison des valeurs obtenues lors de l'étude interlaboratoire avec celles obtenues dans le cadre de l'étude préliminaire, pour la méthode alternative**

	Etude collaborative	Etude préliminaire
Exactitude relative (AC)	99,7	90,6
Sensibilité (SE)	100	88,9
Spécificité (SP)	100	92,0

#### 4.5.2 Degré d'accord (DA)

Le degré d'accord est le pourcentage de chances de trouver le même résultat (c'est-à-dire tous les deux positifs ou tous les deux négatifs) pour deux prises d'essai identiques analysées dans le même laboratoire, dans des conditions de répétabilité (c'est-à-dire un seul opérateur utilisant le même appareillage et les mêmes réactifs dans l'intervalle de temps le plus court possible). Le degré d'accord est ainsi l'équivalent de la répétabilité pour les méthodes quantitatives.

Les degrés d'accord pour la méthode de référence et la méthode alternative et pour chaque niveau sont reportés ci-après :

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

#### 4.5.3 Concordance

La concordance est le pourcentage de chances de trouver le même résultat pour deux échantillons identiques analysés dans deux laboratoires différents. La concordance est donc l'équivalent de la reproductibilité pour les méthodes quantitatives.

Les pourcentages de concordance pour la méthode de référence et la méthode alternative, à chaque niveau, sont repris dans le tableau ci-après :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	100 %	99%
L1	100 %	100 %
L2	100 %	100 %

#### 4.5.4 Odds Ratio (COR)

Il est calculé selon la formule suivante :

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

Les Odds ratio pour la méthode de référence et la méthode alternative sont donnés ci-après :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	1,0	1,0
L1	1,0	1,0
L2	1,0	1,0

## 5 PRATICABILITE

La praticabilité de la méthode alternative a été évaluée d'après les treize critères définis dans les exigences relatives aux études préliminaires et collaboratives.

1. <i>Mode de conditionnement des éléments de la méthode</i>	Le bouillon One Broth <i>Salmonella</i> (OBS) est disponible sous forme déshydratée (500 g) avec le supplément à reconstituer ou sous forme de bouillon prêt à l'emploi (flacon de 225 ml) ou poches prêtes à l'emploi de 3 l. Le milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i> est disponible sous forme de boîtes précoulées (x 10 unités).
2. <i>Volume des réactifs</i>	Milieu One Broth <i>Salmonella</i> déshydraté : 500 g Milieu One Broth <i>Salmonella</i> prêt à l'emploi : flacon de 225 ml ou poche de 3 l Supplément One Broth <i>Salmonella</i> : 10 ampoules pour 2,25 ml Boites précoulées milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i> : 18 ml
3. <i>Conditions de stockage des éléments et péremption des produits non ouverts</i>	Milieu OBS : la température de stockage est indiquée sur le flacon de poudre One Broth <i>Salmonella</i> ; elle est de 10 - 30°C. Le milieu prêt à l'emploi en flacon est stocké à 2 - 12°C. Pour les suppléments, elle est indiquée sur le coffret, sur chaque flacon et sur la notice. Elle est de 2 - 8°C. Milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i> : la température est indiquée sur chaque paquet de boîtes de géloses : 6 - 12°C
4. <i>Modalité d'utilisation après première utilisation</i>	Sans objet
5. <i>Equipements ou locaux spécifiques nécessaires</i>	Aucune exigence particulière n'est nécessaire. Les locaux et le matériel sont ceux habituellement utilisés dans un laboratoire de microbiologie.
6. <i>Réactifs prêts à l'emploi à reconstituer</i>	Le supplément One Broth <i>Salmonella</i> est à reconstituer avec 2 ml d'eau distillée stérile.
7. <i>Durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode</i>	Un technicien connaissant les techniques de microbiologie peut être formé en moins d'une journée.

8. Temps réel de manipulation et flexibilité par rapport au nombre d'échantillons à analyser (temps en minutes)						
Etapas	1 échantillon		10 échantillons		30 échantillons	
	Méthode de référence	Méthode alternative	Méthode de référence	Méthode alternative	Méthode de référence	Méthode alternative
Préparation, pesée, et broyage	5	5	25	25	75	75
Repiquage sur bouillons RVS et MKTTn	3		17		50	
Isolement sur géloses sélectives à partir de RVS et MKTTn	5		40		60	
Isolement One Broth <i>Salmonella</i> sur milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i>		2		7		20
Lecture des géloses	2	0,5	20	2	60	5
Total (échantillons négatifs)	15	7,5	102	34	245	100
Total / échantillon négatif	15	7,5	10,2	3,4	8,2	3,3
Ces temps correspondent à des séries d'échantillons négatifs pour lesquels aucune confirmation n'est nécessaire. Dans le cas de séries d'échantillons tous positifs, il faut rajouter le temps nécessaire aux confirmations :						
Etapas	1 échantillon		10 échantillons		30 échantillons	
	Méthode de référence	Méthode alternative	Méthode de référence	Méthode alternative	Méthode de référence	Méthode alternative
Confirmation de la méthode rapide Salmonelle par test latex		2		7		20
Confirmation de la méthode rapide Salmonelle par tests classiques		10		58		173
Tests de confirmation pour la méthode de référence	10		60		180	
Total (échantillons positifs)	25	Latex : 9,5 Classique : 17,5	162	Latex : 41 Classique : 92	425	Latex : 120 Classique : 173
Total / échantillon positif	25	Latex : 9,5 Classique : 17,5	16,2	Latex : 4,1 Classique : 9,2	14,2	Latex : 4 Classique : 5,8
<p><b>Pour des échantillons négatifs</b>, le temps de manipulation est environ trois fois moins important pour la méthode alternative que pour la méthode de référence.</p> <p><b>Pour des échantillons positifs ou présentant des colonies suspectes</b>, le temps nécessaire aux manipulations est quatre fois moins important pour la méthode alternative.</p>						

9. <i>Délai d'obtention des résultats</i> <b>Echantillons négatifs</b>				
	Etapes	Méthode de référence	Méthode alternative	
			Confirmation latex	Confirmation par tests classiques
	Réalisation du pré-enrichissement	J0	J0	J0
	Inoculation des bouillons RVS et MKTTn	J1		
	Isolement sur milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i>		J1	J1
	Isolement des bouillons RVS et MKTTn sur géloses sélectives	J2		
	Lecture des géloses	J3	J2	J2
	Obtention du résultat négatif	J3	J2	J2
	<b>Echantillons positifs</b>			
Etapes		Méthode de référence	Méthode alternative	
			Confirmation latex	Confirmation par isolement sur gélose sélective
Réalisation du pré-enrichissement		J0	J0	J0
Inoculation des bouillons RVS et MKTTn		J1		
Isolement sur milieu Brilliance™ <i>Salmonella</i>			J1	J1
Isolement des bouillons RVS et MKTTn sur géloses sélectives		J2		
Lecture des géloses sélectives et isolement sur GN		J3		J2
Test latex			J2	
Tests de confirmation		J4		J3
Obtention du résultat positif	J5	J2	J4	
<p><b><u>Pour des échantillons négatifs</u></b>, le résultat est obtenu en 48 h pour la méthode alternative contre 72 h pour la méthode de référence.</p> <p><b><u>Pour des échantillons positifs ou présentant des colonies suspectes</u></b>, un résultat positif peut être obtenu en 48 h pour la méthode alternative dans le cas d'une confirmation au test latex. Dans le cas d'une confirmation par tests classiques, ce délai est rallongé de 48 h.</p>				

10. <i>Type de qualification de l'opérateur</i>	Le niveau de qualification requis pour l'opérateur est identique à celui requis pour réaliser la méthode de référence.
11. <i>Etapes communes avec la méthode de référence</i>	Seules les phases de pré-enrichissement (modalités de préparation, dilution et d'incubation des échantillons) et de confirmation (tests confirmation identiques à partir de colonies typiques sur géloses sélectives) sont communes à la méthode de référence et à la méthode alternative.
12. <i>Traçabilité des résultats</i>	Il n'existe pas de traçabilité spécifique. Les laboratoires peuvent utiliser leur propre procédure de traçabilité comme pour la méthode de référence.
13. <i>Maintenance par le laboratoire</i>	Il n'y a aucune maintenance spécifique, mise à par les procédures de vérification des lots et de la date de péremption, classiquement mises en œuvre au laboratoire.

## 6 CONCLUSION

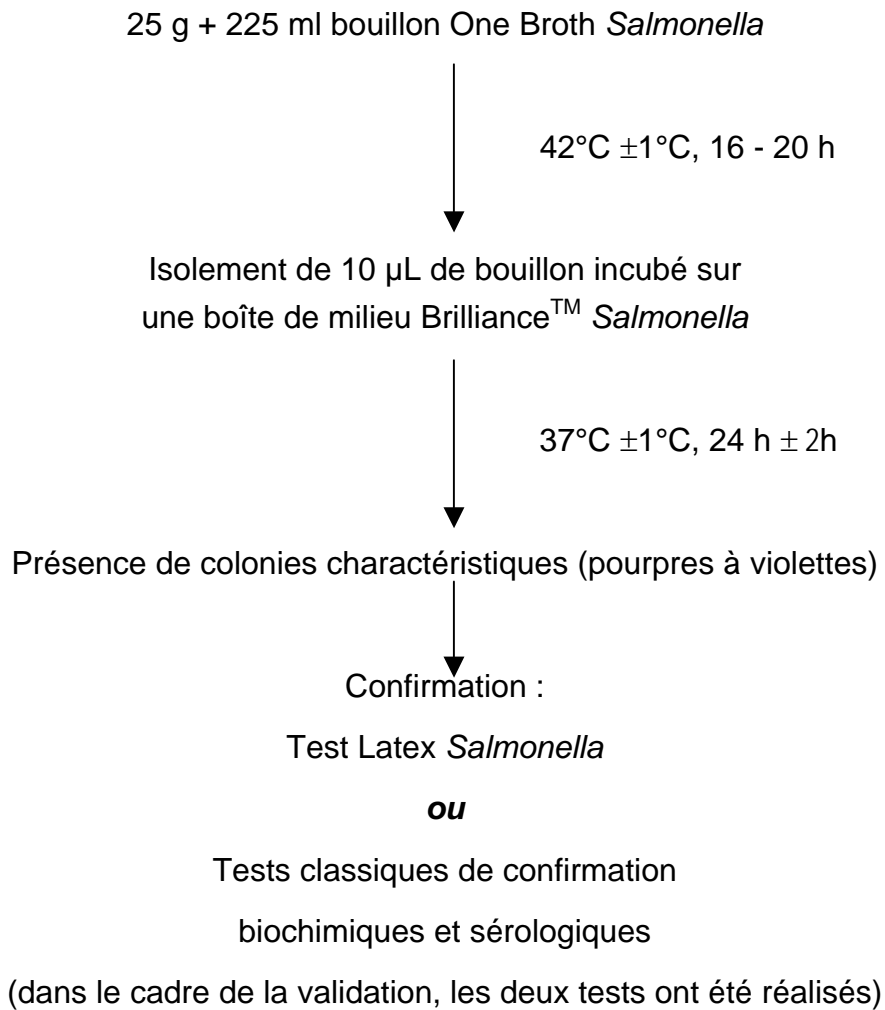
---

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

- ❑ **Quel que soit le test de confirmation, test latex ou isolement sur gélose sélective, la méthode *Salmonella* Precis™ montre une exactitude relative, un niveau de détection relatif, une inclusivité et une exclusivité satisfaisants.**
- ❑ La méthode permet de diminuer par un coefficient de 3 à 4 le temps de manipulation, selon qu'il s'agit de séries comprenant des échantillons négatifs et/ou positifs, selon le test de confirmation choisi. Elle montre un gain de temps dans le délai d'obtention des résultats, plus particulièrement dans l'obtention de résultats positifs confirmés par le test latex.
- ❑ Les performances d'exactitude, spécificité et sensibilité relatives sont équivalentes lors d'une conservation du bouillon d'enrichissement pendant 72 h à 4°C.

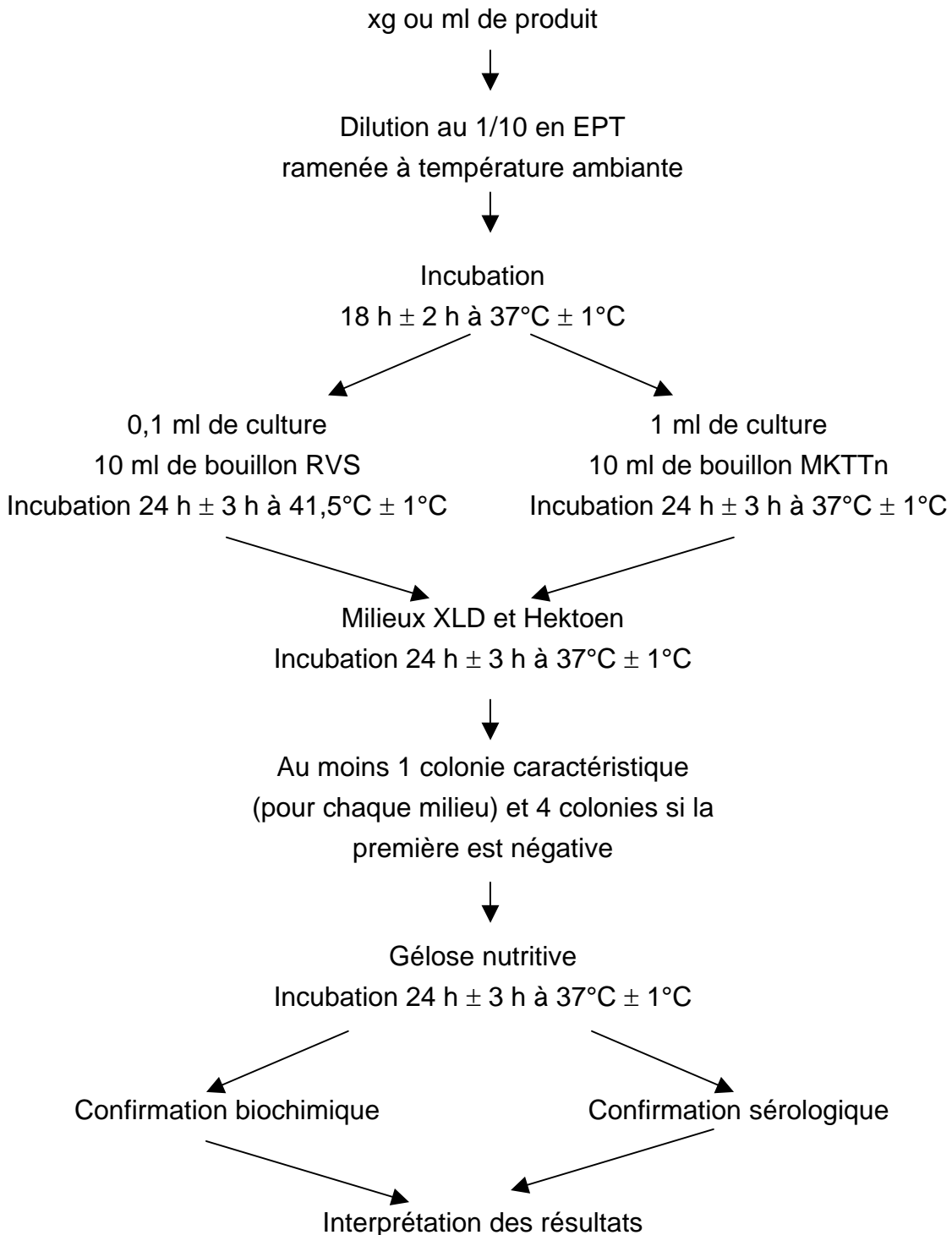
Les **conclusions de l'étude collaborative** sont les suivantes :

- ❑ La variabilité de la méthode alternative (degré d'accord, concordance, odds ratio) est identique à celle de la méthode de référence.

**Annexe 1 - Méthode alternative**

## Annexe 2 - Méthode de référence

**NF EN ISO 6579 : 2002 : Microbiologie des aliments**  
**Méthode horizontale pour la recherche de *Salmonella***



## Annexe 3 - Résultats bruts de l'inclusivité et de l'exclusivité

SOUCHES NEGATIVES						
	Souche	Référence	Origine	Taux d'inoculation ufc/ml	Méthode <i>Salmonella</i> Precis™	
					Isolement Brilliance™ <i>Salmonella</i> (Aspect des colonies)	Latex
1.	<i>Citrobacter Diversus</i>	adria 140	Lait cru	1,3.10 <sup>5</sup>	Violacé	-
2.	<i>Citrobacter Koseri</i>	adria 71	Légumes surgelés	1,1.10 <sup>5</sup>	Crème	/
3.	<i>Citrobacter Freundii</i>	adria 23	Saucisse de Toulouse	5,6.10 <sup>4</sup>	Crème	/
4.	<i>Citrobacter Freundii</i>	59		1,0.10 <sup>5</sup>	Crème	/
5.	<i>Citrobacter Freundii</i>	adria 175	VSM de canard	1,2.10 <sup>5</sup>	Crème	/
6.	<i>Escherichia Coli</i>	adria 2B	Saucisse	7,4.10 <sup>4</sup>	Crème	/
7.	<i>Escherichia Coli</i>	adria 19	Carottes râpées	7,0.10 <sup>4</sup>	Crème	/
8.	<i>Escherichia Coli</i>	adria 6	Saucisse	9,4.10 <sup>4</sup>	Crème	/
9.	<i>Escherichia Vulneris</i>	adria 127	Lait cru	1,3.10 <sup>5</sup>	Crème à jaune pâle	/
10.	<i>Escherichia Hermanii</i>	Ad 461	Crème anglaise	9,3.10 <sup>4</sup>	Crème rosé	/
11.	<i>Enterobacter Agglomerans</i>	adria 11	Fromage	9,4.10 <sup>4</sup>	Crème	/
12.	<i>Enterobacter Amnigenus</i>	A00C068	Coquelet	1,1.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
13.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 10	Lait cru	7,0.10 <sup>4</sup>	Turquoise	/
14.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 128	Steak haché	8,7.10 <sup>4</sup>	Turquoise	/
15.	<i>Enterobacter Kobei</i>	Ad 342	Jambon	1,0.10 <sup>5</sup>	Bleu croissance faible	/
16.	<i>Enterobacter Sakazakii</i>	adria 95	Fromage blanc	8,3.10 <sup>4</sup>	Violacé croissance faible	-
17.	<i>Enterobacter Sakazakii</i>	adria D7	Volaille	1,3.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
18.	<i>Hafnia Alvei</i>	adria 167	Saucisse	1,1.10 <sup>5</sup>	Crème	/
19.	<i>Hafnia Alvei</i>	adria 168	VSM de canard	1,3.10 <sup>5</sup>	Crème	/
20.	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	57		1,0.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
21.	<i>Klebsiella Oxytoca</i>	42		1,2.10 <sup>5</sup>	Turquoise pâle	/
22.	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	28		1,1.10 <sup>5</sup>	Crème	/
23.	<i>Proteus Mirabilis</i>	adria 54	VSM de volaille	1,5.10 <sup>5</sup>	Crème à jaune pâle	/
24.	<i>Proteus Mirabilis</i>	55		1,2.10 <sup>5</sup>	Crème	/
25.	<i>Proteus Vulgaris</i>	56		4,4.10 <sup>4</sup>	Turquoise	/
26.	<i>Rhanella Aquatilis</i>	Ad 69	Coquillages	<20	Pousse -	/
27.	<i>Serratia Liquefaciens</i>	5	Ovoproduit	1,3.10 <sup>5</sup>	Beige rosé	/
28.	<i>Serratia Proteomaculans</i>	A00C056	Jambon	1,5.10 <sup>5</sup>	Pousse très faible, translucide	/
29.	<i>Shigella Sonnei</i>	CIP 8249T (ATCC 29930)		1,3.10 <sup>5</sup>	Crème	/
30.	<i>Yersinia Enterocolitica</i>	adria 32	Lardons	1,1.10 <sup>5</sup>	Bleu croissance faible	/
31.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 48		3,0.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
32.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 58		3,4.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
33.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 98		3,2.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
34.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 148		3,1.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
35.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	adria 150		2,9.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
36.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Fb2		1,9.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
37.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Fb3		1,6.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
38.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	I3		1,5.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
39.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Ad230		2,9.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/
40.	<i>Enterobacter Cloacae</i>	Mii0595		3,9.10 <sup>5</sup>	Turquoise	/

SOUCHES POSITIVES						
	Souche	Référence	Origine	Taux d'inoculation ufc/225ml	Méthode <i>Salmonella</i> Precis™	
					Isolement Brilliance™ <i>Salmonella</i>	Latex
1.	<i>Salmonella Agona</i>	A00V038	Alimentation animale	54	Colonies violacées	+
2.	<i>Salmonella Anatum</i>	A00E007	Poussières laiterie	44	Colonies violacées	+
3.	<i>Salmonella Arizonae</i>	Ad 450	Lait de brebis	33	Colonies violacées	+
4.	<i>Salmonella Arizonae</i>	Ad 478	Palourdes	73	Colonies violacées	+
5.	<i>Salmonella Binza</i>	adria 27	Elevage	48	Colonies violacées (croissance faible)	+
6.	<i>Salmonella Bovis morbificans</i>	adria 132	Poitrine fumée crue	44	Colonies violacées	+
7.	<i>Salmonella Bovis morbificans</i>	adria 6629	Chipolatas	34	Colonies violacées	+
8.	<i>Salmonella Brandenburg</i>	adria 499	Saucisse de Toulouse	51	Colonies violacées	+
9.	<i>Salmonella Branderup</i>	adria 111	VSM de porc	41	Colonies violacées	+
10.	<i>Salmonella Bredeney</i>	adria 464	Pâté de tête	59	Colonies violacées	+
11.	<i>Salmonella Bredeney</i>	adria 141	Crépinette	56	Colonies violacées	+
12.	<i>Salmonella Brando</i>	adria 569	Chair à saucisse	43	Colonies violacées	+
13.	<i>Salmonella Cremieu</i>	Ad 230	Lièvre	49	Colonies violacées	+
14.	<i>Salmonella Diarizoane</i>	Ad 595	Fromage	51	Colonies violacées	+ fine
15.	<i>Salmonella Derby</i>	adria 374	Chipolatas	36	Colonies violacées	+
16.	<i>Salmonella Duisberg</i>	adria 42	Elevage	37	Colonies violacées	+
17.	<i>Salmonella Dublin</i>	adria 40	Produit alimentaire	37	Pousse - à partir OBS, colonies légèrement rosées à partir d'EPT	+
18.	<i>Salmonella Dublin</i>	Ad 528	Pâte à galettes	57	Colonies violacées	+
19.	<i>Salmonella Dublin</i>	Ad 529	Hampe de bœuf	37	Colonies violacées pâles	+
20.	<i>Salmonella Dublin</i>	Ad 530	Steak haché	34	Colonies violacées pâles	+
21.	<i>Salmonella Dublin</i>	Ad 531	Fromage au lait cru	50	Colonies violacées pâles	+
22.	<i>Salmonella Enteritidis</i>	adria 657	Coule d'œuf	55	Colonies violacées	+
23.	<i>Salmonella Enteritidis</i>	adria 2532	Jambon cuit	44	Colonies violacées	+
24.	<i>Salmonella Hadar</i>	35	Volaille	57	Colonies violacées	+
25.	<i>Salmonella Hadar</i>	adria 24871	Blanc de poulet	35	Colonies violacées	+
26.	<i>Salmonella Heidelberg</i>	adria 285	Farce de tomate	61	Colonies violacées	+
27.	<i>Salmonella Heidelberg</i>	adria 24876	Blanc de poulet	7	Colonies violacées	+
28.	<i>Salmonella Indiana</i>	adria 2	Farine de poisson	20	Colonies violacées	+
29.	<i>Salmonella Infantis</i>	adria 14	Coule d'œuf	19	Colonies violacées	+
30.	<i>Salmonella Infantis</i>	adria 401B	Lait cru	33	Colonies violacées	+
31.	<i>Salmonella Kottbus</i>	1	Volaille	50	Colonies violacées	+
32.	<i>Salmonella Lvingstone</i>	F104	Alimentation animale	22	Colonies violacées	+
33.	<i>Salmonella London</i>	adria 326	Epaule cuite	23	Colonies violacées	+
34.	<i>Salmonella Manhattan</i>	adria 900	Poussière de laiterie	13	Colonies violacées	+
35.	<i>Salmonella Mbandaka</i>	adria 81	Coule d'œuf	7	Colonies violacées	+
36.	<i>Salmonella Newport</i>	adria 540	Saucisse de Toulouse	19	Colonies violacées	+
37.	<i>Salmonella Newport</i>	adria 586	Carcasse de bœuf	20	Colonies violacées	+
38.	<i>Salmonella Panama</i>	adria 8	Steak haché	22	Colonies violacées	+
39.	<i>Salmonella Panama</i>	adria 882	Chipolatas aux herbes	9	Colonies violacées	+
40.	<i>Salmonella Paratyphi A</i>	ATCC 9150		17	Colonies violacées	+
41.	<i>Salmonella Paratyphi B</i>	Ad 301	Humaine	49	Colonies violacées	+

SOUCHES POSITIVES						
Souche	Référence	Origine	Taux d'inoculation ufc/225ml	Méthode <i>Salmonella</i> Precis™		
				Isolement Brilliance™ <i>Salmonella</i>	Latex	
42.	<i>Salmonella Paratyphi C</i>	ATCC 13428	63	Colonies violacées	+	
43.	<i>Salmonella Regent</i>	adria 328	Canard	37	Colonies violacées	+
44.	<i>Salmonella Seftenberg</i>	1	Produit alimentaire	42	Colonies violacées	+
45.	<i>Salmonella Saintpaul</i>	631	Volaille	58	Colonies violacées	+
46.	<i>Salmonella Tennessee</i>	A00E006	Poussières laiterie	58	Colonies violacées	+
47.	<i>Salmonella Thompson</i>	AER 301	Volaille	41	Colonies violacées	+
48.	<i>Salmonella Typhi</i>	Ad 302	Humaine	49	Colonies violacées	+
49.	<i>Salmonella Typhimurium</i>	adria 206	Coule d'œuf pasteurisée	63	Colonies violacées	+
50.	<i>Salmonella Typhimurium</i>	adria 305	Paella	34	Colonies violacées	+
51.	<i>Salmonella Typhimurium</i>	adria 528	Saumure	61	Colonies violacées	+
52.	<i>Salmonella Virchow</i>	F276	Curry	55	Colonies violacées	+
53.	<i>Salmonella Worthington</i>	adria 3506	Terrine de pâté	43	Colonies violacées	+