

NF VALIDATION

VALIDATION AFNOR CERTIFICATION DE LA METHODE

XplOrer64™ / CheckN'Safe™ Enterococci Kit

pour le dénombrement des entérocoques

Protocole pour les eaux de baignade, les eaux de rejet et les eaux résiduaires brutes et traitées

RAPPORT DE SYNTHÈSE – JUILLET 2015 – V1

Laboratoire expert :

ISHA
25 avenue de la République
91300 MASSY
FRANCE

Fabricant :

BIO-RAD
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 MARNES LA COQUETTE
FRANCE

Ce rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis aux analyses. Sa reproduction n'est autorisée que sous forme de fac-similé photographique intégral. Il comporte 60 pages. Seuls certains essais reportés dans ce document sont couverts par l'accréditation de la Section Laboratoire du COFRAC. Ils sont identifiés par le symbole (*).

Essais réalisés à l'ISHA : 25 avenue de la République, 91300 Massy, France.

Table des matières

1.	Introduction.....	4
1.1.	Date(s) et historique de validation.....	4
1.2.	Principe et protocole de la méthode alternative.....	4
1.3.	Domaine d'application.....	4
1.4.	Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée.....	4
2.	Etude comparative des méthodes.....	5
2.1.	Exactitude, spécificité et sensibilité relatives.....	5
2.1.1.	Nombre et nature des échantillons.....	5
2.1.2.	Résultats bruts.....	5
2.1.3.	Exploitation statistique.....	7
2.1.4.	Conclusion.....	8
2.2.	Linéarité.....	8
2.2.1.	Niveaux de contamination.....	8
2.2.2.	Résultats bruts.....	8
2.2.3.	Exploitation statistique.....	10
2.2.4.	Conclusion.....	10
2.3.	Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ).....	11
2.3.1.	Protocole d'essai.....	11
2.3.2.	Résultats.....	11
2.3.3.	Conclusion.....	12
2.4.	Spécificité / sélectivité.....	12
2.4.1.	Protocoles d'essai.....	12
2.4.2.	Résultats.....	12
2.4.3.	Conclusion.....	13
2.5.	Praticabilité.....	13
2.6.	Conclusion générale.....	14
3.	Etude interlaboratoires.....	16
3.1.	Mise en œuvre de l'étude collaborative.....	16
3.1.1.	Laboratoires collaborateurs.....	16
3.1.2.	Vérification de l'absence d'entérocoque dans la matrice.....	16
3.1.3.	Stabilité des souches dans la matrice.....	16
3.1.4.	Préparation et inoculation des échantillons.....	16
3.1.5.	Etiquetage des échantillons.....	16
3.1.6.	Expédition des échantillons.....	17
3.1.7.	Réception et analyse des échantillons.....	17

3.2.	Résultats	17
3.2.1.	Température et état des échantillons à réception.....	17
3.2.2.	Dénombrement de la flore totale.....	17
3.2.3.	Résultats des laboratoires expert et collaborateurs	17
3.3.	Interprétation statistique	17
3.3.1.	Calcul du biais	17
3.3.2.	Profils d'exactitude	18
3.4.	Conclusion	18
4.	Conclusion	20

Annexes

Annexe 1 : protocoles de la méthode alternative et de la méthode de référence

Annexe 2 : résultats d'exactitude relative de la validation initiale

Annexe 3 : souches stressées essais complémentaires

Annexe 4 : résultats de l'exactitude relative de l'étude d'extension et des essais complémentaires

Annexe 5 : résultats de la linéarité

Annexe 6 : résultats de la LOD/LOQ

Annexe 7 : résultats de la sélectivité

Annexe 8 : résultats de l'étude collaborative

1. [Introduction](#)

1.1. [Date\(s\) et historique de validation](#)

La méthode XplOrer64 pour le dénombrement des Entérocoques dans les eaux de baignade a été validée AFNOR Certification en 2009 sous le numéro d'attestation BRD 07-19 – 11/09 selon le protocole de validation d'une méthode alternative commerciale par rapport à une méthode de référence (révision 1).

Une étude d'extension a été réalisée en 2011 pour la détection des entérocoques dans les eaux résiduaires traitées (catégorie 1b en 2010, nouvelle sous-catégorie en 2013 « eaux de rejet, résiduaires brutes et traitées » de la catégorie des eaux industrielles). Les trois différents protocoles de la méthode alternative pour cette catégorie ont été appliqués.

En 2011, l'ensemble des résultats de l'étude comparative de la validation initiale et de l'étude d'extension ont été exploités avec le logiciel XplOrer64 V3.0 et la courbe de calibration QC Entero.

L'ensemble de ces essais a été réalisé par le laboratoire EUROFINs IPL Nord dans le cadre de la marque NF VALIDATION, conformément aux exigences en vigueur.

En 2014, lors de la première reconduction de la méthode, des essais complémentaires d'exactitude portant sur des échantillons de la catégorie « eaux de baignade » ont été réalisés en duplicat, ceci afin d'être conforme à la révision 2 du « Protocole de validation d'une méthode alternative commerciale par rapport à une méthode de référence » de mai 2013. Ces essais ont été réalisés par le laboratoire ISHA.

1.2. [Principe et protocole de la méthode alternative](#)

La méthode XplOrer64 est une méthode automatisée par mesure de l'impédancemétrie, en milieu liquide, sans confirmation. Chaque cellule de mesure contient le milieu de culture sélectif, qui permet la croissance spécifique des souches d'entérocoques, et deux électrodes mesurant la variation du signal d'impédance pendant la croissance.

La détection des entérocoques et l'analyse des données sont optimisées pour une utilisation avec le système automatisé XplOrer64 et le logiciel XplOrer64 V3.0.

La notice d'utilisation actuellement en vigueur de la méthode alternative est présentée en annexe 1 et le protocole utilisé durant l'étude de validation dans l'annexe 2.

1.3. [Domaine d'application](#)

Le domaine d'application de la méthode, conformément à la révision 2 du « Protocole de validation d'une méthode alternative commerciale par rapport à une méthode de référence » de mai 2013, regroupe :

- la catégorie des eaux de baignade comprenant les sous-catégories « eaux douces » et « eaux de mer »,
- la sous-catégorie « eaux de rejet, résiduaires brutes et traitées » de la catégorie des eaux industrielles.

1.4. [Méthode de référence à laquelle la méthode alternative a été comparée](#)

La norme NF EN ISO 7899-1 : 1999 « Qualité de l'eau : Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires – Partie 1 : Méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide ».

Le protocole de la méthode de référence est présenté en annexe 2.

2. Etude comparative des méthodes

2.1. Exactitude, spécificité et sensibilité relatives

L'exactitude relative est définie comme l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée.

2.1.1. Nombre et nature des échantillons

- Etude de validation initiale de 2009

La première exploitation statistique avait porté sur 63 résultats interprétables provenant de 170 échantillons (dont 160 naturellement contaminés et 10 artificiellement contaminés), appartenant aux deux catégories d'eau suivantes : eau douce (40 échantillons exploitables) et eau de mer (33 échantillons exploitables).

Les 10 échantillons artificiellement contaminés étaient des échantillons d'eau de mer obtenus en contaminant de l'eau de mer avec une eau de station d'épuration (concentration entre 10^3 et 10^4 cellules / 100 mL) afin d'obtenir de fortes concentrations.

Les essais avaient été réalisés en simple par les deux méthodes. L'exploitation des données en 2011 avec la version 3 du logiciel XplOrer64 avait permis de retenir 39 résultats pour les eaux douces et 15 résultats pour les eaux de mer.

- Etude d'extension de 2011

L'exploitation statistique a porté sur 68 résultats interprétables provenant de 109 échantillons d'eaux résiduaires traitées (effluents de station d'épuration), tous naturellement contaminés, et analysés en double par les deux méthodes. Trois protocoles ont été testés, le protocole général (filtration de 100 mL), le protocole spécifique 1 (filtration de 10 mL) et le protocole spécifique 2 (ensemencement de 1 mL).

- Etude de reconduction et essais complémentaires de 2014

Une catégorie d'eaux, les eaux de baignade, a été testée en duplicat avec la méthode de référence et la méthode alternative.

Les différents types d'échantillons analysés sont présentés dans le tableau 1.

Dénombrement	Type d'eau	Echantillons analysés	Echantillons exploités
Entérocoques	Eaux douce	14	10
	Eaux de mer	24	10
	Total	38	20

Tableau 1 : nature et nombre d'échantillons analysés

Au total, 38 échantillons ont été analysés et 20 résultats ont été exploités. Les échantillons non retenus dans l'analyse statistique correspondent à des échantillons pour lesquels des dénombrements inférieurs ou supérieurs à la limite de détection ont été trouvés pour au moins un des réplicats de l'une ou l'autre des méthodes.

Les taux de contaminations employés couvrent l'ensemble de la gamme de mesure de la méthode alternative. Les stress appliqués et les souches utilisées sont présentés en annexe 4.

2.1.2. Résultats bruts

Les résultats bruts et les calculs statistiques sont résumés dans les tableaux 2 et 3 et en annexe 5. La figure 1 représente les graphiques bidimensionnels pour la catégorie testée. L'axe y est réservé à la méthode alternative et l'axe x à la méthode de référence. La représentation d'une droite d'équation « $y=x$ » figure en pointillés sur les figures.

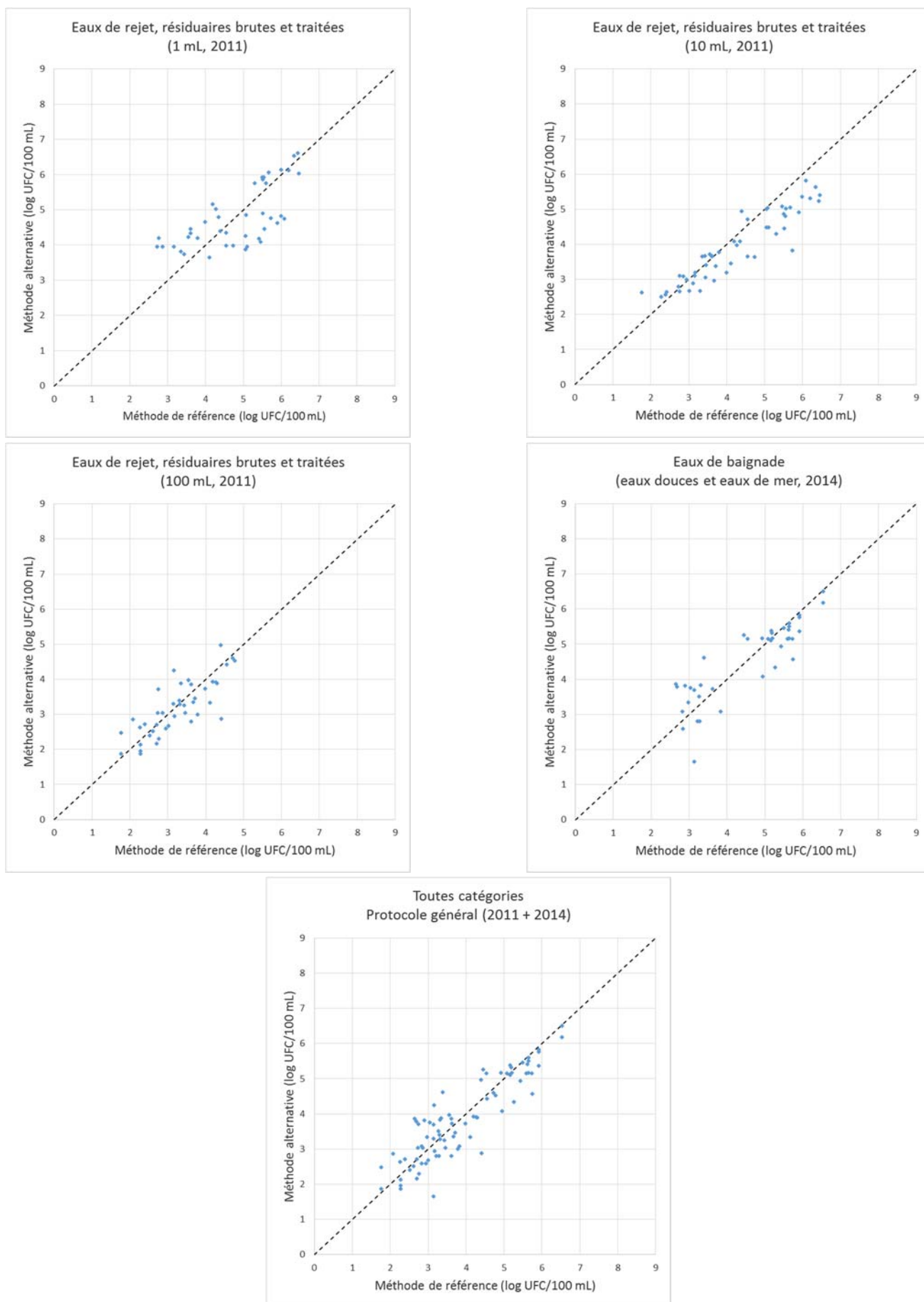


Figure 1 : graphiques bidimensionnels représentant les résultats bruts de l'étude de justesse

2.1.3. Exploitation statistique

La relation d'exactitude relative entre la méthode de référence et la méthode alternative est évaluée avec le modèle linéaire : « $y = a + bx$ ». Cette formule correspond à l'équation de la droite de régression linéaire tracée à partir des résultats bruts obtenus par l'expérimentation, y représentant la méthode alternative et x la méthode de référence.

Il y a une exactitude idéale (ou il n'y a pas de biais systématique) entre les deux méthodes si cette équation est égale à l'équation théorique « $y = x$ », qui s'applique dans le modèle idéal où les deux méthodes se comportent de la même façon.

L'intercept « a » est théoriquement nul dans ce modèle idéal (hypothèse [$a=0$]). L'intercept estimé obtenu avec les deux méthodes est vérifié à l'aide de $p\{a=0\}$. Si la méthode alternative présente un biais systématique par rapport à la méthode de référence, la probabilité $p\{a=0\}$ est inférieure à $\alpha = 0,05$.

La pente « b » est théoriquement égale à 1 dans le modèle idéal (hypothèse [$b=1$]). La pente estimée obtenue avec les deux méthodes doit se vérifier par $p\{b=1\}$. Statistiquement, si la méthode alternative ne donne pas les mêmes valeurs que la méthode de référence, la probabilité $p\{b=1\}$ est inférieure à $\alpha = 0,05$.

Le choix de la méthode de régression linéaire se fait par rapport à la valeur de la robustesse du rapport R des écart-types de répétabilité globale :

- si $Rob.R > 2$, une régression linéaire par les moindres carrés (OLS 1) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode de référence,
- si $Rob.R < 0,5$, une régression linéaire par les moindres carrés (OLS 2) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode alternative,
- si $0,5 < Rob.R < 2$, une régression orthogonale (GMFR) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode de référence.

Catégorie	Rob.R	Régression utilisée	T critique	a	t(a)	b	t(b)	Probabilités (%)	
								Ordonnée à 0	Pente à 1
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 1 mL	0,660	GMFR	2,080	0,980	1,475	0,790	1,559	15,7	13,5
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 10 mL	0,900	GMFR	2,056	0,700	3,046	0,759	4,654	0,5	0,01
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 100 mL	2,342	OLS1	2,080	0,606	1,428	0,792	1,637	17,0	11,8
Eaux de baignade	4,391	OLS1	2,086	0,458	1,303	0,895	0,306	20,1	76,2
Toutes catégories protocole général	3,553	OLS1	2,019	0,146	0,141	0,951	0,191	88,8	84,9

Tableau 2 : données statistiques pour le dénombrement des entérocoques dans les catégories

Catégorie	Biais (D)		Répétabilité			
	Moyen	Médian	r		rob. r	
			MR	MA	MR	MA
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 1 mL	-0,032	0,109	0,691	0,754	0,373	0,246
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 10 mL	-0,326	-0,319	0,669	0,579	0,413	0,372
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 100 mL	-0,069	-0,140	0,464	1,011	0,453	1,061
Eaux de baignade	-0,016	-0,155	0,238	1,269	0,222	0,973
Toutes catégories protocole général	-0,043	-0,140	0,371	1,144	0,276	0,980

Tableau 3 : biais et répétabilité des deux méthodes

2.1.4. Conclusion

L'équation de la droite de régression des différents couples sont les suivantes :

Matrice testée	Droite de régression (log entérocoques / 100 mL)
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 1 mL	$\log(\text{Alt}) = 0,790 \log(\text{Ref}) + 0,980$
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 10 mL	$\log(\text{Alt}) = 0,759 \log(\text{Ref}) + 0,700$
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 100 mL	$\log(\text{Alt}) = 0,792 \log(\text{Ref}) + 0,606$
Eaux de baignade	$\log(\text{Alt}) = 0,895 \log(\text{Ref}) + 0,458$
Toutes catégories protocole général	$\log(\text{Alt}) = 0,951 \log(\text{Ref}) + 0,146$

L'hypothèse [a=0 et b=1] est acceptée pour toutes les catégories testées, à l'exception des eaux de rejet et résiduaires pour le protocole 10 mL. Pour ce couple, le coefficient de corrélation et l'équation de la droite de régression sont corrects : respectivement 0,944 et $\log(\text{Alt}) = 0,759 \log(\text{Ref}) + 0,700$.

Le biais entre les deux méthodes est compris entre -0,319 et 0,109 en fonction du protocole et de la catégorie testés.

L'exactitude relative de la méthode alternative est correcte.

2.2. Linéarité

La linéarité est définie comme 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. Niveaux de contamination

Les couples matrice / souche sont présentés dans le tableau 4. Pour ce couple, trois niveaux de contaminations ont été testés en double par la méthode de référence et la méthode alternative.

Souche	Matrice	Taux de contamination cible (UFC/100 mL)
<i>E. faecalis</i> (souche CCM 2541, collection Eurofins IPL Nord)	Eau douce superficielle	50 / 500 / 5000
	Eau de mer	
<i>E. faecalis</i> (eau station d'épuration, collection Eurofins IPL Nord)	Eau résiduaire traitée, protocole général	$2 \cdot 10^2$
<i>E. faecalis</i> (eau station d'épuration, collection Eurofins IPL Nord)	Eau résiduaire traitée, protocole 10 mL	$2 \cdot 10^4$
<i>E. faecalis</i> (eau station d'épuration, collection Eurofins IPL Nord)	Eau résiduaire traitée, protocole 1 mL	$2 \cdot 10^6$

Tableau 4 : couples souche / matrice analysés

2.2.2. Résultats bruts

Les résultats bruts et les calculs statistiques sont résumés en annexe 6. Les graphiques de la figure 2 présentent les valeurs de chaque échantillon obtenues par la méthode alternative et la méthode de référence. L'axe y est réservé à la méthode alternative et l'axe x à la méthode de référence.

La représentation d'une droite d'équation « $y=x$ » figure en pointillés sur les figures.

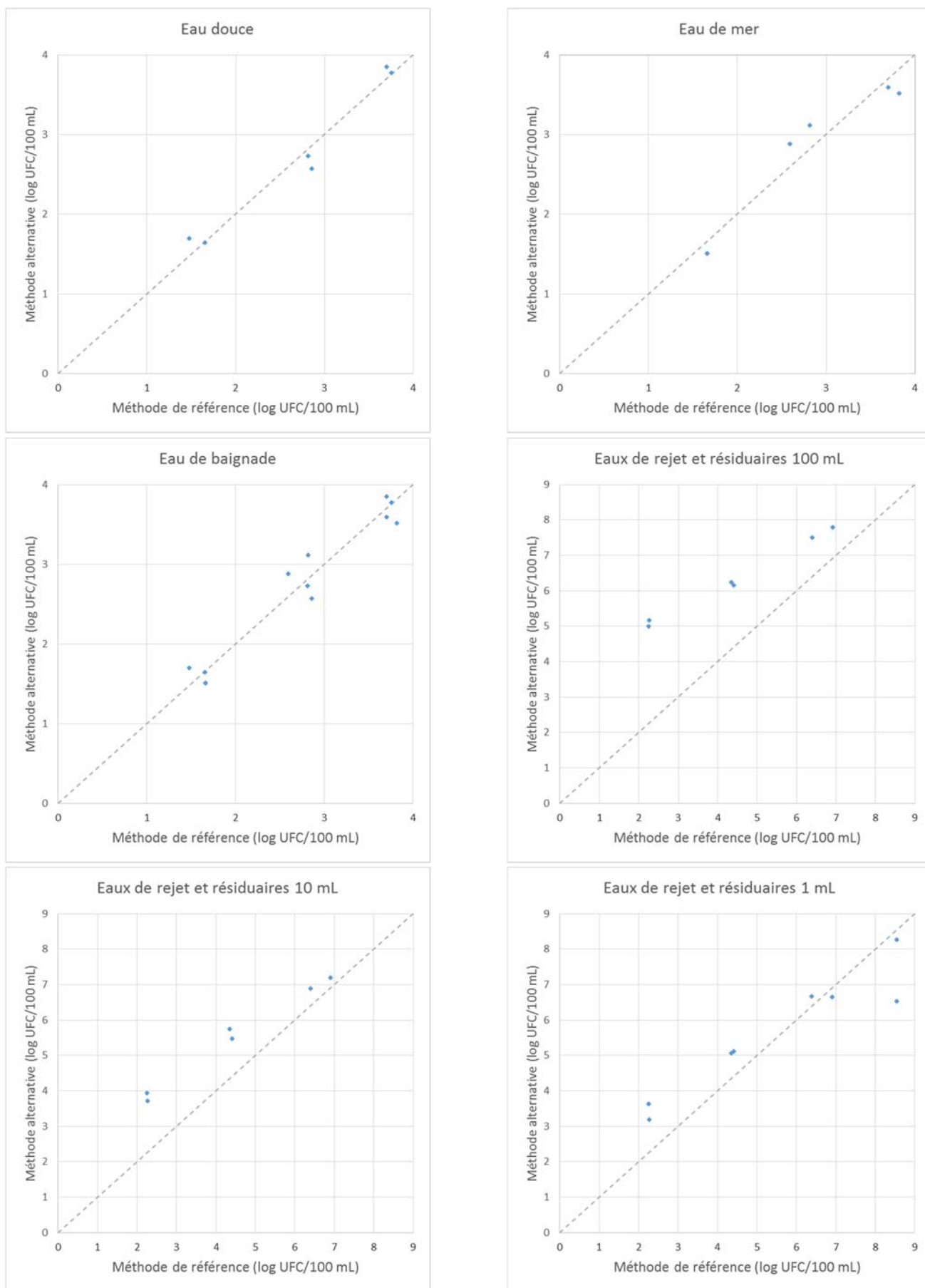


Figure 2 : graphiques bidimensionnels représentant les résultats bruts de l'étude de linéarité

2.2.3. Exploitation statistique

Les interprétations statistiques sont réalisées conformément aux exigences de la norme NF ISO 16140 (cf. tableau 5).

Pour le niveau de concentration le plus faible pour la sous-catégorie « Eau de mer », un des réplicats de la méthode alternative a donné un résultat <1 UFC/100 mL lors de l'étude de validation initiale. L'interprétation statistique n'est par conséquent pas présentée pour cette sous-catégorie en raison du faible nombre de niveaux disponibles (seulement deux). Les deux niveaux exploitables restants sont cependant repris pour l'interprétation statistique de la catégorie « Eau de baignade » qui regroupe les résultats obtenus pour l'eau douce et l'eau de mer.

Le choix de la méthode de régression linéaire se fait par rapport à la valeur de la robustesse du rapport R des écart-types de répétabilité globale :

- si Rob.R>2, une régression linéaire par les moindres carrés (OLS 1) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode de référence,
- si Rob.R < 0,5, une régression linéaire par les moindres carrés (OLS 2) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode alternative,
- si 0,5 < Rob.R < 2, une régression orthogonale (GMFR) est utilisée avec l'axe des x pour la méthode de référence.

Catégorie	Rob. R	Régression utilisée	F critique	Rob. F	P (Rob.F)	Coefficient de corrélation (r)	Droite de régression
Eau douce	1,413	GMFR	10,1	56,327	0,005	0,989	log Alt = 0,986 log Réf + 0,039
Eau de baignade	0,667	GMFR	5,41	13,092	0,008	0,973	log Alt = 0,935 log Réf + 0,207
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 100 mL	2,524	OLS1	10,1	0,484	0,537	0,999	log Alt = 0,586 log Réf + 3,712
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 10 mL	4,132	OLS1	10,1	0,788	0,440	0,996	log Alt = 0,734 log Réf + 2,245
Eaux de rejet, résiduaires et traitées 1 mL	6,628	OLS1	6,94	11,456	0,022	0,991	log Alt = 0,674 log Réf + 1,960

Tableau 5 : données statistiques du couple souche / matrice (données brutes et logarithmiques)

La relation entre les 2 méthodes n'est pas linéaire :

- si Rob.F > F critique, ou
- si P(Rob.F) < α (=0,05)

2.2.4. Conclusion

La relation entre les deux méthodes est linéaire pour les matrices eaux de rejet et eaux résiduaires, protocole 100 mL et 10 mL.

Pour les matrices eau douce et eau de baignade, les coefficients de corrélation et les équations de la droite de régression sont satisfaisants.

Pour le protocole de 1 mL réalisé avec des eaux résiduaires traitées, les coefficients de corrélation et l'équation de la droite de régression sont corrects. Le résultat du test statistique illustre la dispersion des points obtenus pour le niveau le plus élevé avec ces matrices.

La linéarité de la méthode alternative est correcte.

2.3. Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ)

Le niveau critique est défini comme la plus petite quantité qui peut être détectée (non nulle), mais non quantifiée comme une valeur exacte.

La limite de détection est définie comme le niveau supérieur au niveau critique.

La limite de quantification est définie comme la plus petite quantité d'analyte qui peut être mesurée et quantifiée avec une exactitude et une fidélité définies dans les conditions expérimentales.

2.3.1. Protocole d'essai

Les limites de détection et de quantification ont été déterminées en analysant une culture pure d'une souche d'entérocoques par la méthode alternative.

Cinq niveaux de contamination, avec six répétitions pour chaque niveau, ont été étudiés.

2.3.2. Résultats

Les résultats bruts sont présentés dans l'annexe 7 et la synthèse dans les tableaux suivants.

- Protocole général (filtration de 100 mL)

Niveau (UFC/100mL)	Nombre d'échantillons positifs	Ecart-type (So)	Biais (Xo)
0	0/6		
0,5	3/6	634	22
1,1	6/6	211	153
2,1	6/6	675	696

A partir des valeurs s_0 et x_0 obtenues pour le premier niveau, la limite critique (LC) et la limite de détection (LOD) ont été déterminées dans 100 mL:

Paramètre	Formules	Valeur obtenue (Entérocoque / 100 mL)
Niveau critique (LC)	$1,65 S_0 + X_0$	$1,0 \cdot 10^3$
Limite de détection (LOD)	$3,30 S_0 + X_0$	$2,1 \cdot 10^3$
Limite de quantification (LOQ)	$10,00 S_0 + X_0$	$3,6 \cdot 10^3$

- Protocole spécifique 1 (filtration de 10 mL)

Niveau (UFC/100mL)	Nombre d'échantillons positifs	Ecart-type (So)	Biais (Xo)
0	0/6		
1,0	3/6	352	90
2,1	4/6	135	10
5,2	5/6	295	355
10,4	6/6	441	220

A partir des valeurs s_0 et x_0 obtenues pour le premier niveau, la limite critique (LC) et la limite de détection (LOD) ont été déterminées dans 10 mL:

Paramètre	Formules	Valeur obtenue (Entérocoque / 100 mL)
Niveau critique (LC)	$1,65 S_o + X_o$	$6,7 \cdot 10^2$
Limite de détection (LOD)	$3,30 S_o + X_o$	$1,2 \cdot 10^3$
Limite de quantification (LOQ)	$10,00 S_o + X_o$	$3,6 \cdot 10^3$

- Protocole spécifique 2 (ensemencement de 1 mL)

Niveau (UFC/100mL)	Nombre d'échantillons positifs	Ecart-type (So)	Biais (Xo)
0	0/6		
0,5	0/6	0	0
0,7	3/6	289	1
1,4	6/6	632	785
2,9	6/6	349	1200

A partir des valeurs s_0 et x_0 obtenues pour le premier niveau, la limite critique (LC) et la limite de détection (LOD) ont été déterminées dans 1 mL:

Paramètre	Formules	Valeur obtenue (Entérocoque / 100 mL)
Niveau critique (LC)	$1,65 S_o + X_o$	$4,8 \cdot 10^2$
Limite de détection (LOD)	$3,30 S_o + X_o$	$9,5 \cdot 10^2$
Limite de quantification (LOQ)	$10,00 S_o + X_o$	$2,9 \cdot 10^3$

2.3.3. Conclusion

La limite de détection et la limite de quantification de la méthode alternative sont satisfaisantes.

2.4. Spécificité / sélectivité

La spécificité est définie comme la capacité de la méthode à mesurer avec exactitude un analyte donné, ou sa quantité dans l'échantillon sans interférences avec les composants non cibles.

La sélectivité est définie comme la capacité de la méthode à mesurer l'analyte recherché exclusivement.

2.4.1. Protocoles d'essai

- Protocole pour l'inclusivité

Chaque souche d'entérocoque a été cultivée en bouillon TCS (20 h à 37°C), puis diluée dans du tryptone sel afin d'obtenir entre 10^1 - 10^2 cellules dans 100 mL avant réalisation des analyses avec la méthode XplOrer64™ - CheckN'Safe™ *Enterococci*.

- Protocole pour l'exclusivité

Les différentes souches étudiées ont été cultivées en bouillon TCS (20 h à 37°C), puis diluées dans du tryptone sel afin d'obtenir entre 10^3 - 10^5 cellules dans 100 mL avant réalisation de l'analyse selon la méthode XplOrer64™ - CheckN'Safe™ *Enterococci*.

En cas de résultat discordant par rapport à celui attendu, un nouvel essai a été réalisé avec, en parallèle, la méthode de référence et la méthode XplOrer64™ - CheckN'Safe™ *Enterococci*.

2.4.2. Résultats

Inclusivité :

Sur 30 souches testées, 28 ont été détectées. En ce qui concerne les 2 souches non détectées :

- une souche d'*Enterococcus avium* (eau de puits) n'a pas été détectée par la méthode alternative et la méthode de référence.
- une souche d'*Enterococcus faecalis* sur 3 testées n'a pas été détectée par la méthode alternative.

Exclusivité :

Lors de la validation initiale en 2009, 29 des 30 souches interférentes testées n'étaient pas détectées par la méthode alternative comme attendu. Seul l'échantillon dopé avec *Providencia stuartii* avait donné un résultat faussement positif.

Lors de l'extension de 2011 (nouvelle version du logiciel), la réaction croisée avec *Providencia stuartii* n'était plus observée.

2.4.3. Conclusion

En conclusion, les résultats d'inclusivité sont satisfaisants.

2.5. Praticabilité

La praticabilité est étudiée en renseignant les 13 critères définis par le Bureau Technique.

1- Mode de conditionnement des éléments de la méthode

Les cellules de bouillon sélectif CheckN'Safe™ Enterococci sont conditionnés en cartons de 120 ou 60 unités prêtes à l'emploi.

2- Volume des réactifs

Chaque cellule contient 10 ml de bouillon sélectif CheckN'Safe™ Enterococci.

3- Conditions de stockage des éléments

Le kit doit être conservé à +2-8°C ou à température ambiante. La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement et sur chacun des tests.

4- Modalités d'utilisation après première utilisation

Chaque cellule est à usage unique et doit donc être éliminée à la fin de l'analyse comme une matière potentiellement infectieuse.

5- Equipements ou locaux spécifiques nécessaires

- Configuration normale et matériel courant d'un laboratoire de microbiologie des eaux (rampe de filtration, eau distillée),
- Système automatisé XplOrer64™,
- Portoirs CheckN'Safe™ (Bio-Rad, code 359-3455, 4 unités sont fournies avec le système XplOrer64™),
- Bouchons pour tests CheckN'Safe™, 40 unités stériles × 1 sachet (Bio-Rad, code 359-3457).

6- Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer

Le bouillon CheckN'Safe™ Enterococci est prêt à l'emploi.

7- Durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode

Moins de 1 jour pour un opérateur formé aux techniques classiques de microbiologie (en particulier technique de filtration sur membrane).

8- Temps réel de manipulation et flexibilité de la technique

• Protocoles avec filtration (général et spécifique 1)

Pour l'analyse d'un échantillon le temps nécessaire pour la méthode alternative est de 2,7 minutes, alors qu'il faut 5,5 minutes pour réaliser la méthode de référence.

- Protocole spécifique 2 (ensemencement direct)

Le protocole spécifique 2 utilisant un ensemencement direct est plus rapide que les 2 autres protocoles de la méthode alternative utilisant une étape de filtration (protocole général et protocole spécifique 1). La filtration est d'autant plus longue que les échantillons ont une filtrabilité réduite, souvent liée au taux et à la taille des matières en suspensions.

La durée d'ensemencement d'un échantillon par méthode XplOrer64™ CheckN'Safe™ Enterococci ne varie pas selon le nombre d'échantillons (en particulier pour le protocole spécifique 2, basé sur un ensemencement direct de 1 mL).

Le gain de temps est obtenu au niveau de la préparation des échantillons et des lectures : l'automate peut accueillir 62 cellules, et donc donner simultanément 62 résultats.

9- Délai d'obtention des résultats

La méthode alternative donne un résultat négatif ou positif selon le type d'eau le jour même ou à J+1, alors que le résultat est obtenu entre J+2 et J+3 par la méthode de référence.

10- Type de qualification de l'opérateur

Personnel formé en microbiologie. Le niveau est identique à celui nécessaire pour la méthode de référence.

11- Etapes communes avec la méthode de référence

Aucune.

12- Traçabilité des résultats d'analyse

Les noms des différents opérateurs peuvent être enregistrés dans l'appareil et sélectionnés selon la personne réalisant l'analyse. Les informations relatives à l'échantillon (référence, origine...) peuvent être enregistrés dans l'appareil, le logiciel. Toutes les données de l'analyse (date, heure, résultats- temps de détection DT...) peuvent être consultées à n'importe quel moment ultérieurement.

13- Maintenance par le laboratoire

Aucune.

2.6. Conclusion générale

L'étude comparative des méthodes a été réalisée selon le référentiel appliqué à l'analyse microbiologique de l'eau « Protocole de validation d'une méthode alternative commerciale par rapport à une méthode de référence » (révision 2) adopté par AFNOR Certification en mai 2013 associé au référentiel NF EN ISO 16140:2003 pour certaines parties de la validation.

Une réinterprétation des résultats acquis antérieurement a été réalisée selon la nouvelle version de logiciel l'XplOrer64™ V3.0, dans le domaine d'application 'eaux de baignade'.

La méthode XplOrer64™ - CheckN'Safe™ Enterococci a été comparée à la méthode NF EN ISO 7899-1.

Les résultats 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 protocole général validé lors de l'étude initiale sur le domaine d'application « eaux de baignade » est apparu plus adapté à des échantillons de faible teneur en MES.

La corrélation entre la méthode de référence et la méthode alternative selon les 3 protocoles étudiés est apparue satisfaisante.

Les valeurs de répétabilité du protocole général (F100 mL) et du protocole spécifique 2 (Direct 1 mL) sont du même ordre et supérieures à celle de la méthode de référence.

Les biais moyens entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) sont de :

- -0,155 log à -0,140 log pour le protocole général,
- -0,319 log pour le protocole spécifique 1 (F10 mL),
- 0,109 log pour le protocole spécifique 2 (Direct 1 mL).

Enfin, les résultats de spécificité sont satisfaisants.

3. Etude interlaboratoires

3.1. Mise en œuvre de l'étude collaborative

3.1.1. Laboratoires collaborateurs

L'étude collaborative a été réalisée par douze laboratoires collaborateurs.

3.1.2. Vérification de l'absence d'entérocoque dans la matrice

La matrice utilisée était de l'eau de mer prélevée à Gravelines (59). Les analyses réalisées sur cette eau montrent l'absence du germe cible.

3.1.3. Stabilité des souches dans la matrice

Le laboratoire expert a conservé 3 colis de composition identique à ceux envoyés aux participants pour vérification de l'homogénéité des lots d'échantillons préparés par analyses selon NF EN ISO 7899-1 en duplicat des échantillons A, B, C, D, E et F contenus dans chaque colis.

L'exploitation des résultats ne révèle pas d'anomalie, les échantillons préparés étaient de qualité suffisante pour être utilisés dans le cadre de cette étude interlaboratoires.

3.1.4. Préparation et inoculation des échantillons

A partir de cette matrice, 4 batchs, nommés I, II, III et IV, ont été créés successivement :

- Batch I non dopé constitué de 150 litres d'eau de mer placée dans une cuve en polyéthylène équipée d'un bras agitateur mécanique (100 t/min). Après 10 minutes d'agitation, ont été soutirés, sans interruption et sous agitation, 15 flacons notés X et 15 flacons notés Y.

- Batch II constitué du restant du batch I dopé à environ 10^2 entérocoques / 100 ml. Après 10 minutes d'agitation, ont été soutirés, sans interruption et sous agitation, 15 flacons notés A et 15 flacons notés B, préalablement mélangés entre eux et pris aléatoirement.

- Batch III constitué du restant du batch II dopé à environ 10^3 entérocoques / 100 ml. Après 10 minutes d'agitation, ont été soutirés, sans interruption et sous agitation, 15 flacons notés C et 15 flacons notés D, préalablement mélangés entre eux et pris aléatoirement.

- Batch IV constitué du restant du batch I.I dopé à environ 10^4 entérocoques / 100 ml. Après 10 minutes d'agitation, ont été soutirés, sans interruption et sous agitation, 15 flacons notés E et 15 flacons notés F, préalablement mélangés entre eux et pris aléatoirement.

La souche d'entérocoque utilisée pour les dopages est une souche isolée de l'environnement (plage centrale de Dunkerque (59)). Les dopages ont été réalisés avec une suspension diluée de germes cultivés en bouillon non sélectif pendant 24h.

Après soutirage, les échantillons sont restés à température ambiante pendant 1h puis mis en colis, les flacons étant répartis de manière aléatoire dans les colis. Un thermo-bouton a été placé dans chaque flacon noté X avant mise en colis.

3.1.5. Etiquetage des échantillons

Quinze colis ont ainsi été constitués, contenant chacun des réfrigérants et 8 échantillons :

- échantillons A, B, C, D, E et F pour dénombrement des *E. coli* et entérocoques intestinaux en duplicats par chaque méthode,

- échantillon X pour mesure de la température, échantillon Y pour dénombrement des germes revivifiables à 22°C et 36°C.

3.1.6. Expédition des échantillons

Les échantillons ont été expédiés dans un kit froid le 5 octobre 2009.

3.1.7. Réception et analyse des échantillons

Les colis ont été livrés entre le 6 et le 7 octobre 2009.

3.2. Résultats

3.2.1. Température et état des échantillons à réception

Tous les colis sont arrivés en bon état et tous les participants ont mesuré une température dans le flacon X à réception comprise entre 1°C et 7°C. Tous les thermo-boutons ont bien été renvoyés et les relevés de températures enregistrées confirment que les échantillons sont restés à température réfrigérée pendant le transport.

3.2.2. Dénombrement de la flore totale

La concentration moyenne observée en germes revivifiables à 22°C dans les échantillons sur Marine Agar est d'environ 4800 / mL, celle en germes revivifiables à 36°C d'environ 2900 / mL.

3.2.3. Résultats des laboratoires expert et collaborateurs

L'ensemble des résultats est présenté dans l'annexe 9.

Les résultats finaux obtenus par les participants par la méthode XplOrer64 ont été recalculés par le laboratoire expert à l'aide d'une nouvelle équation de calibration optimisée, transmise par le fabricant, en utilisant les temps de détection (DT) observés par les participants (ces DT étaient à renseigner par les participants dans le formulaire de résultats).

Les résultats des participants n°9, 10, 11 et 12 n'ont pas été exploités. En effet le participant n°9 a rencontré un problème de logiciel lors de l'analyse par méthode alternative, le participant n°10 rend des résultats aberrants par méthode alternative et les laboratoires n°11 et 12 des résultats anormaux par méthode normalisée. Les résultats des 8 autres laboratoires ont bien pu être exploités.

3.3. Interprétation statistique

3.3.1. Calcul du biais

Le tableau ci-dessous représente la valeur cible, la moyenne, l'écart-type de fidélité, le biais relatif et le biais de chaque niveau de contamination en log UFC/ 100 mL.

Niveaux	Bas	Moyen	Haut
Valeur cible	1,72	2,89	3,79
Moyenne niveau	1,86	2,91	3,63
Ecart-type de répétabilité	0,15	0,27	0,14
Ecart-type inter-séries	0,32	0,10	0,25
Ecart-type de fidélité	0,35	0,29	0,28
Biais relatif	8,04%	0,54%	-4,21%
Biais	0,14	0,02	-,016

La justesse est estimée par le biais qui varie entre -0,16 et 0,14 UFC/100 mL.

3.3.2. Profils d'exactitude

Le tableau ci-dessous présente les valeurs de tolérance et les limites de tolérance de la méthode alternative pour une valeur de probabilité de tolérance de 80% et une valeur de limite d'acceptabilité de 0,8 log. La figure 3 présente le tracé de ce profil d'exactitude.

Probabilité de tolérance	Limite d'acceptabilité	Niveaux	Bas	Moyen	Haut
80%	0,8 en log	Concentration cible théorique moyenne (x)	1,72	2,89	3,79
		Limite de tolérance basse (b)	1,38	2,52	3,24
		Limite de tolérance haute (h)	2,34	3,29	4,02
		Limite de tolérance basse différentielle (b-x)	-0,34	-0,37	-0,55
		Limite de tolérance haute différentielle (h-x)	0,62	0,40	0,23

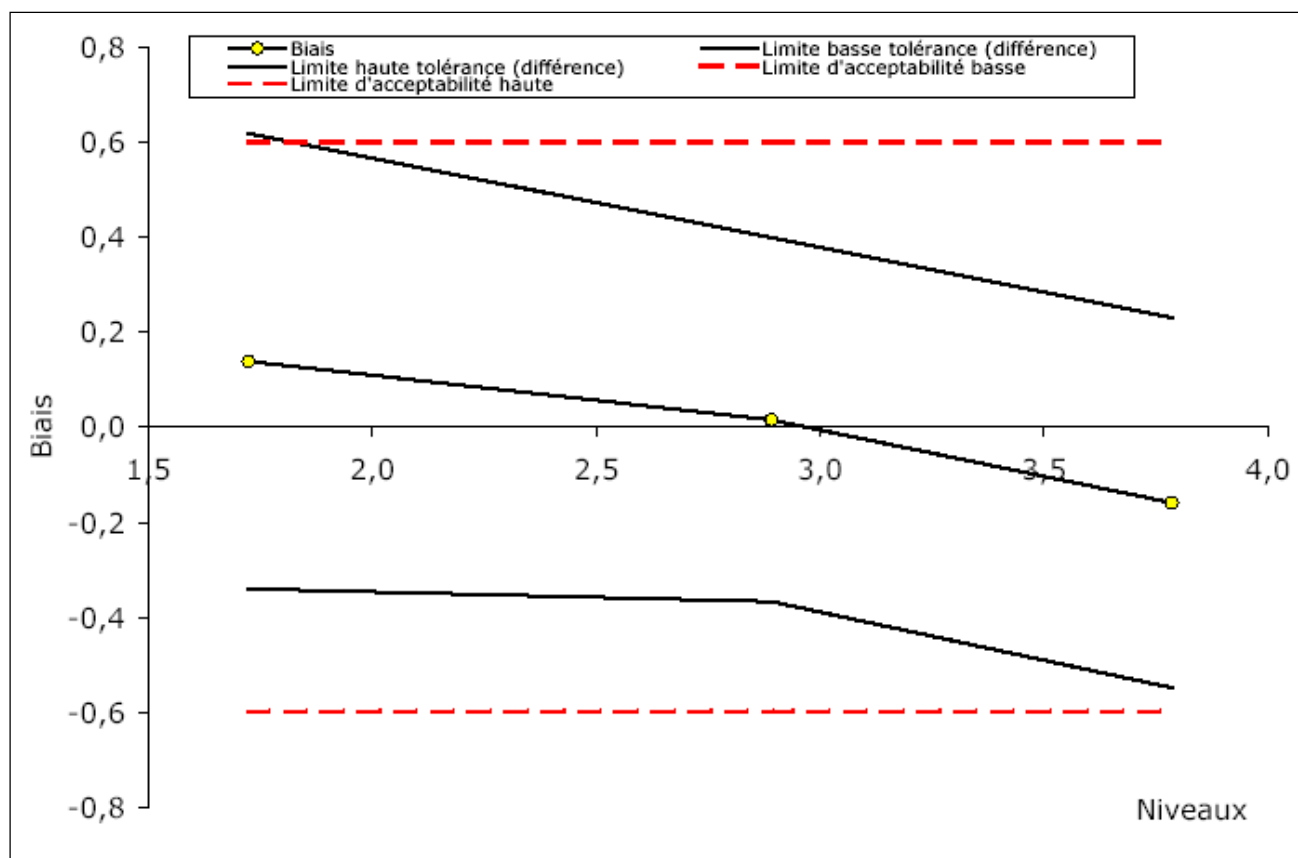


Figure 3 : profil d'exactitude de la méthode alternative avec une probabilité de tolérance (β) de 80% et une limite d'acceptabilité de 0,8 en log

3.4. Conclusion

Les résultats de 8 laboratoires participants ont pu être exploités dans le cadre de cette étude interlaboratoires.

L'étude du profil d'exactitude obtenu avec ces résultats révèle que la méthode alternative XplOrer64 est valide pour tous les niveaux (intervalle de tolérance compris entre les limites d'acceptabilité) pour une valeur de critère d'acceptabilité λ fixée à 0,6.

Pour des valeurs de λ moins élevées, la limite haute de l'intervalle de tolérance à bas niveau et la limite basse à haut niveau sont les premières bornes à sortir des limites d'acceptabilité (dès λ fixée à 0,5).

4. Conclusion

La méthode XplOrer64™ - CheckN'Safe™ Enterococci a été comparée à la méthode NF EN ISO 7899-1.

Les résultats 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 protocole général validé lors de l'étude initiale sur le domaine d'application « eaux de baignade » est apparu plus adapté à des échantillons de faible teneur en MES.

La corrélation entre la méthode de référence et la méthode alternative selon les 3 protocoles étudiés est apparue satisfaisante.

Les valeurs de répétabilité du protocole général (F100 mL) et du protocole spécifique 2 (Direct 1 mL) sont du même ordre et supérieures à celle de la méthode de référence.

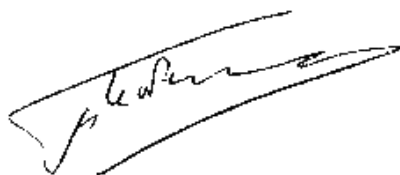
Les biais moyens entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) sont de :

- -0,155 log à -0,140 log pour le protocole général,
- -0,319 log pour le protocole spécifique 1 (F10 mL),
- 0,109 log pour le protocole spécifique 2 (Direct 1 mL).

Les résultats de spécificité sont satisfaisants.

L'étude du profil d'exactitude obtenu avec les résultats de l'étude interlaboratoires révèle que la méthode alternative XplOrer64 est valide pour tous les niveaux (intervalle de tolérance compris entre les limites d'acceptabilité) pour une valeur de critère d'acceptabilité λ fixée à 0,6.

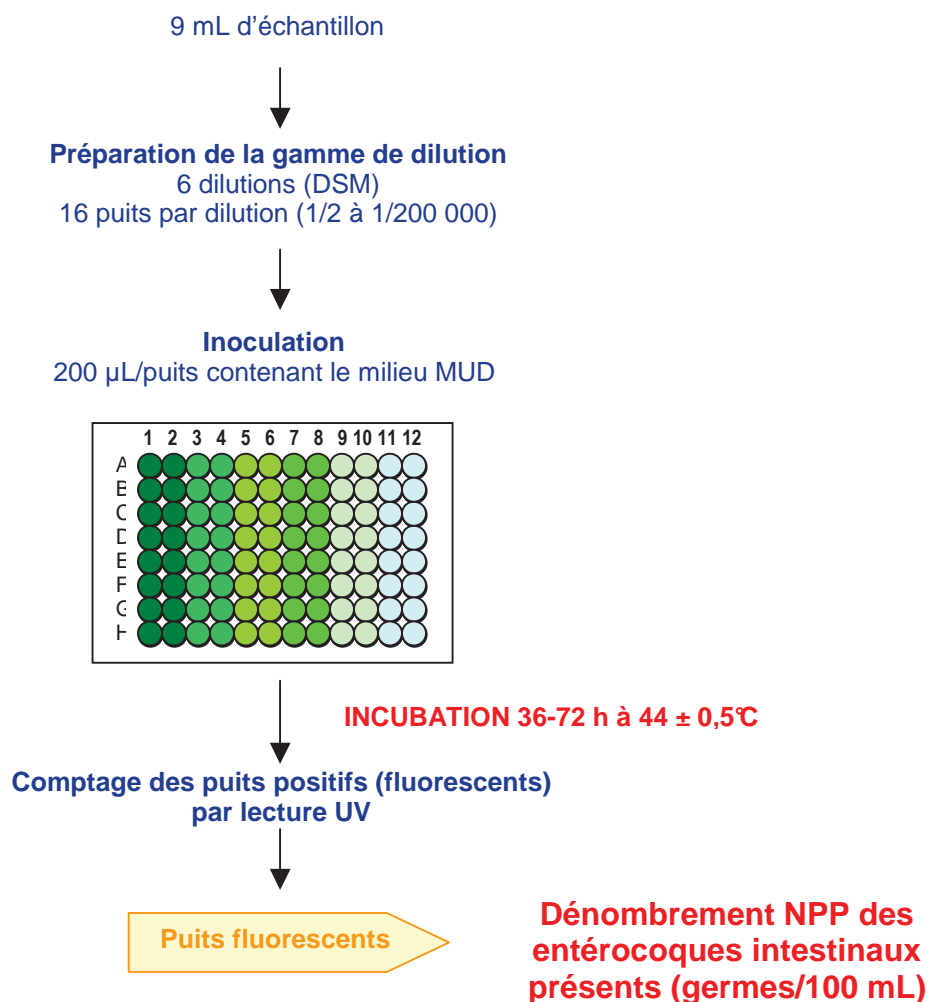
Pour des valeurs de λ moins élevées, la limite haute de l'intervalle de tolérance à bas niveau et la limite basse à haut niveau sont les premières bornes à sortir des limites d'acceptabilité (dès λ fixée à 0,5).



Fait à Massy, le 7 juillet 2015
François Le Nestour
Responsable de l'Unité Innovation Biologie

ANNEXE 1

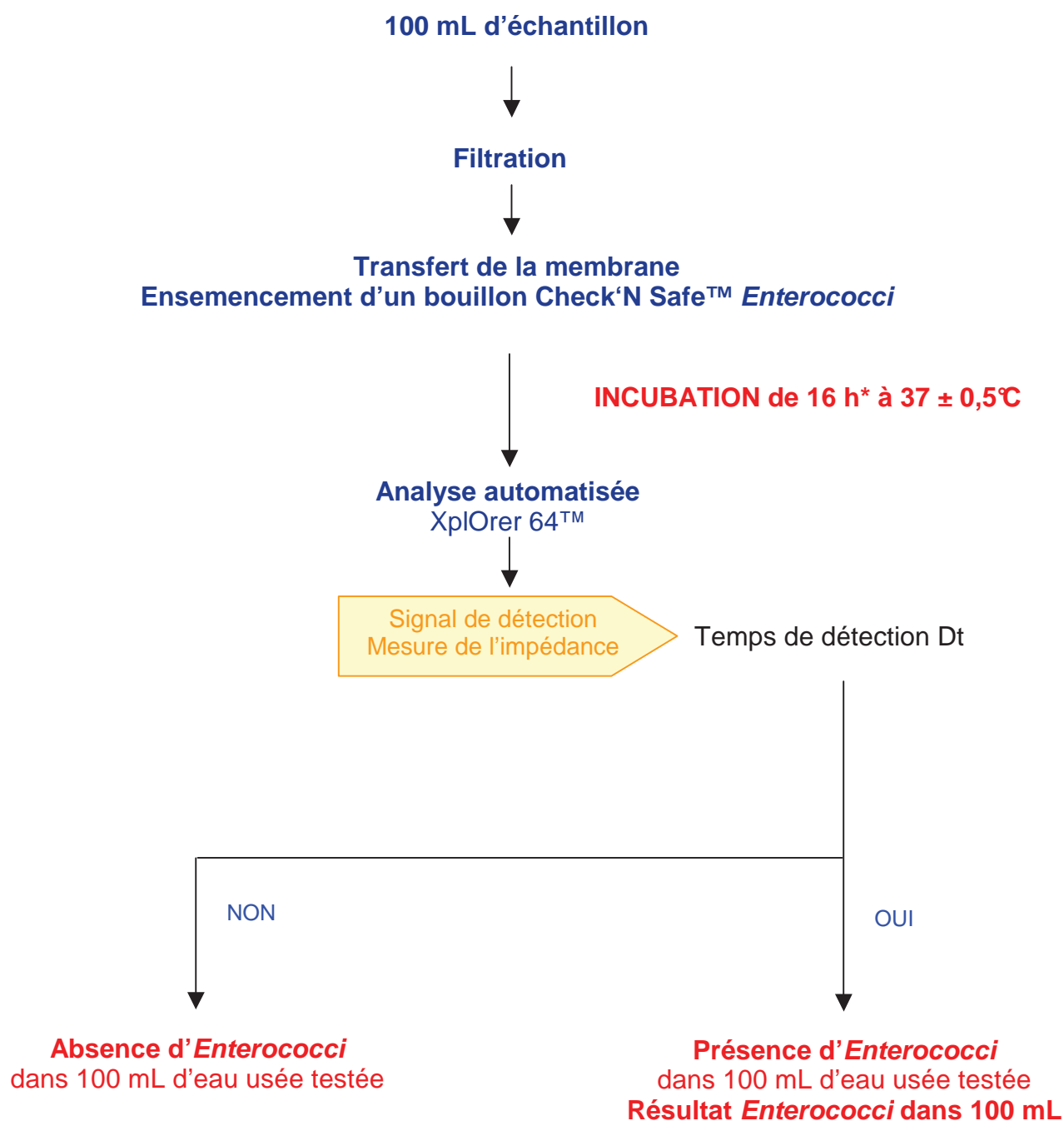
PROTOCOLES ANALYTIQUES

NORME NF EN ISO 7899-1 : 1999**Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et les eaux résiduaires****Part 1 : Méthode miniaturisée pour ensemencement en milieu liquide**

NPP : Nombre le plus probable

Méthode alternative : Méthode XplOrer64™ – CheckN' Safe™ *Enterococci*

Détection et quantification des entérocoques intestinaux
Protocole général, certifié AFNOR VALIDATION en 2009

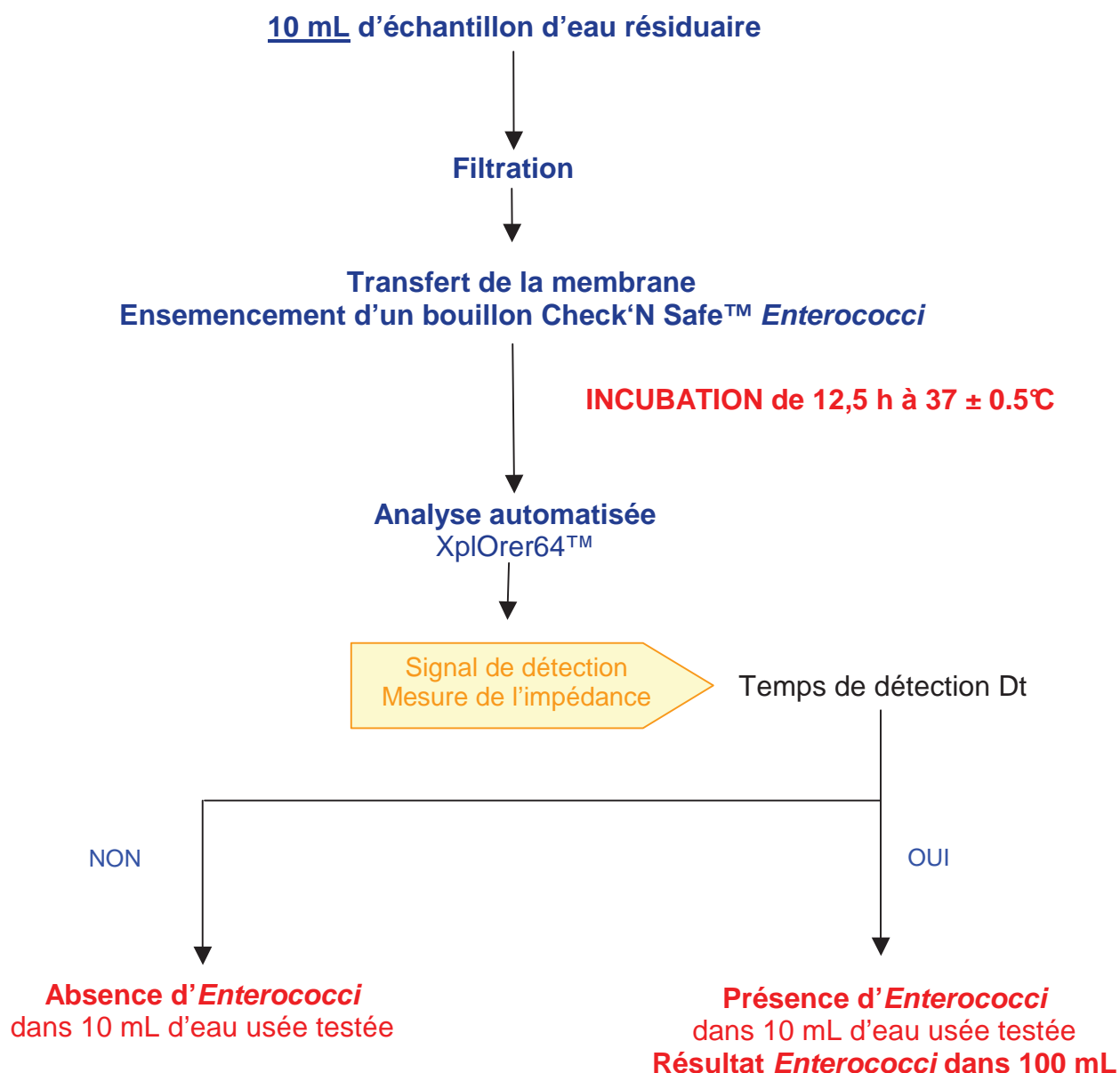


*Note : incubation de 12,5 h pour les eaux de baignade.

Méthode alternative : Méthode XplOrer64™ – CheckN' Safe™ *Enterococci*

Détection et quantification des entérocoques intestinaux

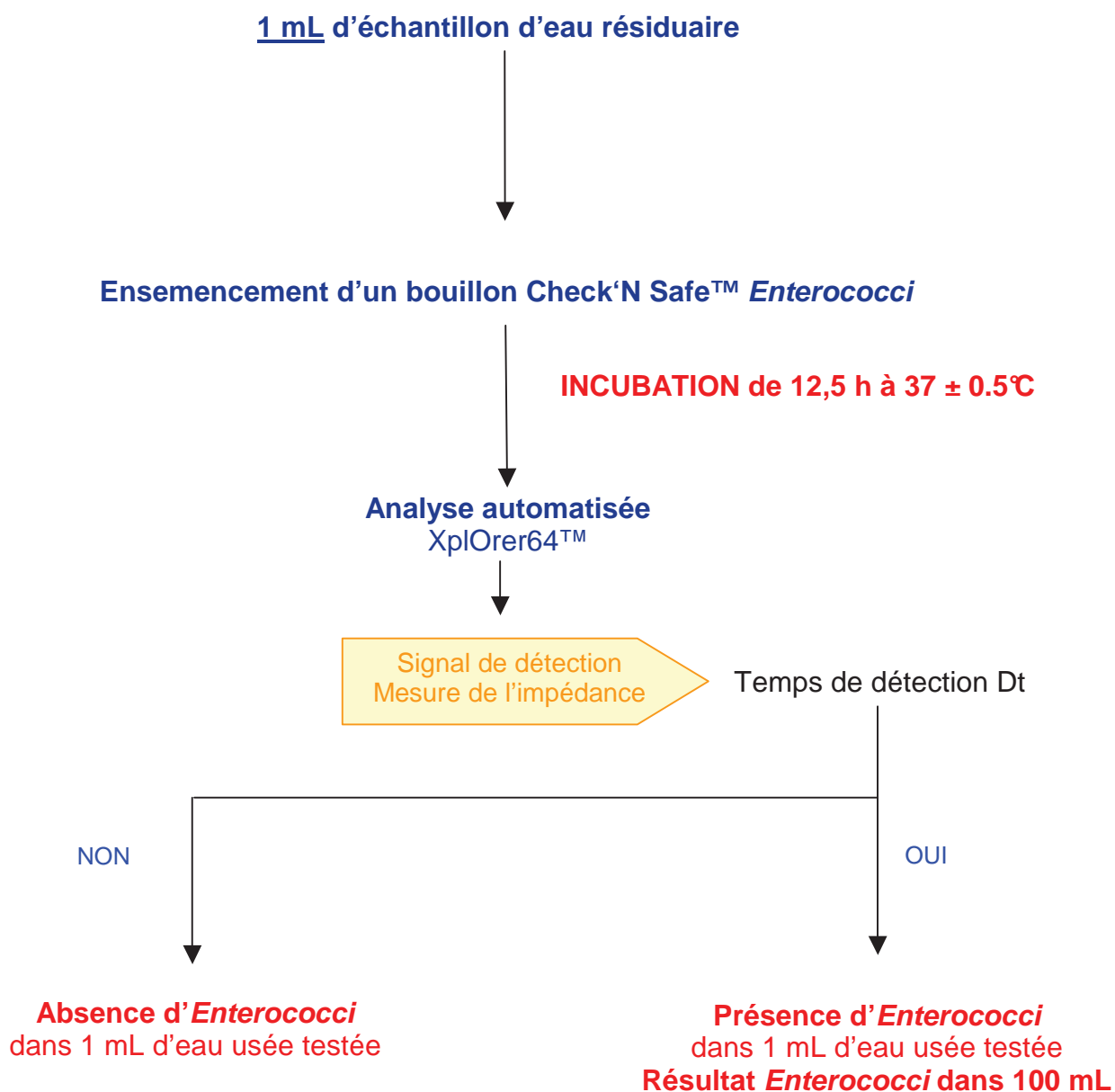
Protocole spécifique aux échantillons ayant une filtrabilité réduite



Méthode alternative : Méthode XplOrer64™ – CheckN'Safe™ *Enterococci*

Détection et quantification des entérocoques intestinaux

Protocole spécifique aux échantillons non filtrables



ANNEXE 2

EXACTITUDE RELATIVE RESULTATS 2009

Les cases grisées correspondent aux résultats
non exploités

Résultats 2009

Domaine d'application : Eau douce superficielle

Code	Echantillon*	Entérocoques (bactéries/100 mL)			Entérocoques (log (bactéries/100 mL))	
		NF EN ISO 7899-1	DT (heures) V3.0	XplOrer64 CheckN'Safe Enterococci V3.0	NF EN ISO 7899-1	XplOrer64 CheckN'Safe Enterococci V3.0
1 à 3	Eaux douce	<15	-	<28		
4 à 6	Eaux douce	<15	-	<28		
7	Eaux douce	<15	-	<28		
8 à 10	Eaux douce	1.50E+01	-	<28		
11	Eaux douce	1.50E+01	11.31	3.47E+01	1.18	1.54
12	Eaux douce	1.50E+01	11.27	3.56E+01	1.18	1.55
13	Eaux douce	1.50E+01	10.85	4.78E+01	1.18	1.68
14	Eaux douce	3.00E+01	11.36	3.37E+01	1.48	1.53
15	Eaux douce	4.60E+01	10.71	5.36E+01	1.66	1.73
16	Eaux douce	4.60E+01	10.64	5.69E+01	1.66	1.76
17	Eaux douce	6.10E+01	11.47	3.17E+01	1.79	1.50
18	Eaux douce	6.10E+01	10.85	4.78E+01	1.79	1.68
19	Eaux douce	6.10E+01	10.28	7.99E+01	1.79	1.90
20	Eaux douce	9.40E+01	10.53	6.28E+01	1.97	1.80
21	Eaux douce	9.40E+01	10.81	4.94E+01	1.97	1.69
22	Eaux douce	1.26E+02	9.82	1.33E+02	2.10	2.12
23	Eaux douce	2.13E+02	9.34	2.46E+02	2.33	2.39
24	Eaux douce	2.15E+02	9.47	2.06E+02	2.33	2.31
25	Eaux douce	2.32E+02	8.89	4.75E+02	2.37	2.68
26	Eaux douce	2.49E+02	8.35	1.17E+03	2.40	3.07
27	Eaux douce	2.49E+02	9.20	2.99E+02	2.40	2.48
28	Eaux douce	2.89E+02	9.86	1.26E+02	2.46	2.10
29	Eaux douce	3.86E+02	9.61	1.72E+02	2.59	2.23
30	Eaux douce	4.34E+02	9.47	2.06E+02	2.64	2.31
31	Eaux douce	4.34E+02	9.07	3.62E+02	2.64	2.56
32	Eaux douce	4.65E+02	8.91	4.61E+02	2.67	2.66
33	Eaux douce	4.76E+02	8.70	6.43E+02	2.68	2.81
34	Eaux douce	5.04E+02	8.60	7.59E+02	2.70	2.88
35	Eaux douce	5.34E+02	-	<28	2.73	
36	Eaux douce	5.34E+02	8.17	1.61E+03	2.73	3.21
37	Eaux douce	5.54E+02	8.55	8.25E+02	2.74	2.92
38	Eaux douce	5.65E+02	8.59	7.71E+02	2.75	2.89
39	Eaux douce	5.74E+02	9.36	2.39E+02	2.76	2.38
40	Eaux douce	5.88E+02	7.75	3.61E+03	2.77	3.56
41	Eaux douce	6.00E+02	8.40	1.07E+03	2.78	3.03
42	Eaux douce	6.33E+02	8.46	9.62E+02	2.80	2.98
43	Eaux douce	6.54E+02	9.60	1.74E+02	2.82	2.24
44	Eaux douce	8.14E+02	8.65	6.98E+02	2.91	2.84
45	Eaux douce	8.82E+02	8.22	1.47E+03	2.95	3.17
46	Eaux douce	9.94E+02	8.87	4.90E+02	3.00	2.69
47	Eaux douce	1.45E+03	8.69	6.54E+02	3.16	2.82
48	Eaux douce	1.48E+03	8.32	1.23E+03	3.17	3.09
49	Eaux douce	2.08E+03	7.98	2.30E+03	3.32	3.36
50	Eaux douce	2.15E+03	8.40	1.07E+03	3.33	3.03
51	Eaux douce	>350000	-	non exploité		

* Echantillons naturellement contaminés

Résultats 2009

Domaine d'application : Eau de mer

Code	Echantillon*	Entérocoques (bactéries/100 mL)			Entérocoques (log (bactéries/100 mL))	
		NF EN ISO 7899-1	DT (heures) V3.0	XplOrer64 CheckN'Safe Enterococci V3.0	NF EN ISO 7899-1	XplOrer64 CheckN'Safe Enterococci V3.0
52 à 110	Eaux de mer	<15	-	<28		
111 à 116	Eaux de mer	<15	-	non exploité		
117 à 126	Eaux de mer	1.50E+01	-	<28	1.18	
127	Eaux de mer	1.50E+01	-	<28	1.18	
128	Eaux de mer	1.50E+01	13.02	<28	1.18	
129	Eaux de mer	1.50E+01	11.53	4.5E+01	1.18	1.65
130	Eaux de mer	1.50E+01	11.10	5.5E+01	1.18	1.74
131	Eaux de mer	1.50E+01	-	<28	1.18	
132	Eaux de mer	1.50E+01	10.76	6.5E+01	1.18	1.81
133	Eaux de mer	1.50E+01	10.78	6.4E+01	1.18	1.81
134	Eaux de mer	1.50E+01	10.89	6.1E+01	1.18	1.79
135	Eaux de mer	1.50E+01	10.55	7.3E+01	1.18	1.86
136 à 140	Eaux de mer	3.00E+01	-	<28	1.48	
141	Eaux de mer	3.0E+01	11.75	4.1E+01	1.48	1.61
142	Eaux de mer	3.0E+01	10.28	8.5E+01	1.48	1.93
143	Eaux de mer	3.0E+01	9.39	1.5E+02	1.48	2.18
144 à 147	Eaux de mer	3.0E+01	-	<28	1.48	
148	Eaux de mer	4.6E+01	-	<28	1.66	
149	Eaux de mer	4.6E+01	12.14	3.6E+01	1.66	1.56
150	Eaux de mer	4.6E+01	-	<28	1.66	
151	Eaux saumâtre	4.6E+01	11.18	5.3E+01	1.66	1.72
152	Eaux de mer	6.1E+01	-	<28	1.79	
153	Eaux de mer	6.1E+01	-	<28	1.79	
154	Eaux de mer	7.7E+01	11.26	3.6E+01	1.89	1.56
155 à 156	Eaux de mer	7.7E+01	-	<28	1.89	
157	Eaux saumâtre	9.4E+01	-	<28	1.97	
158	Eaux de mer	1.4E+02	11.43	3.2E+01	2.16	1.51
159	Eaux de mer	2.9E+02	9.61	1.3E+02	2.46	2.11
160	Eaux de mer	6.5E+02	10.59	6.0E+01	2.81	1.78

* Echantillons naturellement contaminés

Annexe 3- Souches stressées et contaminations artificielles

N° échantillon	Code souche	Souche	Origine	Stress appliqué	Intensité du stress
eau de mer 1	ENTC.2.1	<i>Enterococcus faecium</i>	industrie laitière	10min à -80°C + 10min à 37°C + 10min à -80°C + 10min à 37°C	0,5
eau de mer 2	ENTC.2.1	<i>Enterococcus faecium</i>	industrie laitière	10min à -80°C + 10min à 37°C + 10min à -80°C + 10min à 37°C	0,5
eau de mer 3	ENTC.2.3	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau	10min à -80°C + 10min à 37°C + 10min à -80°C + 10min à 37°C	0,5
eau de mer 4	ENTC.2.3	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau	10min à -80°C + 10min à 37°C + 10min à -80°C + 10min à 37°C	0,5
eau de mer 5	ENTC.1.2	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 33186	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,6
eau de mer 6	ENTC.1.2	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 33186	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,6
eau de mer 7	ENTC.1.2	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 33186	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,6
eau de mer 8	ENTC.3.2	<i>Enterococcus hirae</i>	Eau de rivière	4 j à 4°C + (5 min à -80°C + 5 min à 36°C) x2	0,8
eau de mer 9	ENTC.3.2	<i>Enterococcus hirae</i>	Eau de rivière	4 j à 4°C + (5 min à -80°C + 5 min à 36°C) x2	0,8
eau de mer 10	ENTC.3.2	<i>Enterococcus hirae</i>	Eau de rivière	4 j à 4°C + (5 min à -80°C + 5 min à 36°C) x2	0,8
eau douce 1	ENTC.1.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 103214	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,8
eau douce 2	ENTC.1.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 103214	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,8
eau douce 3	ENTC.1.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	CIP 103214	2 min hypochlorite de sodium dilué au 1/10000ème	0,8
eau douce 4	ENTC.4.1	<i>Enterococcus avium</i>	Eau (Allemagne)	3 semaines à 5°C	0,8
eau douce 5	ENTC.4.1	<i>Enterococcus avium</i>	Eau (Allemagne)	3 semaines à 5°C	0,8
eau douce 6	ENTC.4.1	<i>Enterococcus avium</i>	Eau (Allemagne)	3 semaines à 5°C	0,8
eau douce 7	ENTC.5.1	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau	3 semaines à 5°C	0,7
eau douce 8	ENTC.5.1	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau	3 semaines à 5°C	0,7
eau douce 9	ENTC.3.1	<i>Enterococcus hirae</i>	CIP 58.55	4 j à 4°C + (5 min à -80°C + 5 min à 36°C) x2	0,6
eau douce 10	ENTC.3.1	<i>Enterococcus hirae</i>	CIP 58.55	4 j à 4°C + (5 min à -80°C + 5 min à 36°C) x2	0,6

ANNEXE 4

EXACTITUDE RELATIVE + ESSAIS COMPLEMENTAIRES

Les cases grisées correspondent aux résultats
non exploités.

Légende

Domaine d'application : eaux usées

Cat Catégorie (Classification du BT*)

Code Code échantillon

NF Non filtrable

R1 : réplicat 1

R2 : réplicat 2

b/100 mL : bactéries dans 100 mL

DT : temps de détection

- <1 inférieur à 10 b/100 mL (seuil méthode, protocole général)
- <10 inférieur à 10 b/100 mL (seuil méthode- protocole spécifique 1)
- <100 inférieur à 10 b/100 mL (seuil méthode- protocole spécifique 2)
- <58 inférieur à 58 UFC/PE (seuil méthode de référence)

* Classification des catégories d'eau par type

Eaux traitées 1	Faible teneur en MES a	Eau de réseau de distribution Eau de dialyse Eau de bassins de piscine
	Fort teneur en MES b	Eau de circuits aéroréfrigérants Eau de circuits aéroréfrigérants Eau de process Eau résiduaire traitée
Eaux non traitées 2	Faible teneur en MES a	Eau souterraine Eau minérale Eau de source Eau thermale
	Fort teneur en MES b	Eau superficielle Eau de mer
		Eau résiduaire brute

Résultats détaillés

Domaine d'application : eaux usées

Code	Echantillon d'eau	MES en mg/l	NF EN ISO 7899-1						Méthode alternative Xplorere64 CheckN'Safe Enterococci/							
			Lecture après 36 heures			Lecture après 72 heures			Ensemencement 1 mL			Ensemencement 1 mL				
			Résultats NPP		Enterococci (b/100 ml)	Résultats NPP		Enterococci (b/100 mL)	DT (heures)		Réponse dans 100 mL		DT (heures)		Réponse dans 100 mL	
			R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2		
1	A1	Effluent de station d'épuration, Solesmes	2	10/20/00/00	9/20/00/00	1.01E+03	8.78E+02	10/20/00/00	9/20/00/00	1.01E+03	8.78E+02	10.45	6.76E+03	-	<100	
2	A2	Effluent de station d'épuration, Saulzoir	5	6/00/00/00	7/00/00/00	4.12E+02	5.00E+02	6/00/00/00	7/00/00/00	4.12E+02	5.00E+02	-	<100	-	<100	
3	A3	Eau usée brute, Solesmes	334	16/16/11/21/00	16/16/11/21/00	1.27E+05	9.65E+04	16/16/11/21/00	16/16/12/00/00	1.27E+05	1.12E+05	10.15	9.14E+03	10.33	7.60E+03	
4	A4	Effluent de station, Bierné	16	0/00/00/00	1/00/00/00	<58	5.80E+01	0/00/00/00	1/00/00/00	<58	5.80E+01	-	<100	-	<100	
5	A5	Eau usée brute, Cyostring	175	16/16/14/6/2/1	16/16/15/6/5/0	3.17E+05	2.98E+05	16/16/14/6/2/1	16/16/15/6/2/0	3.17E+05	3.47E+05	7.22	8.56E+05	7.25	8.26E+05	
6	A6	Effluent de station, Oxelaere	2	3/00/00/00	5/00/00/00	1.85E+02	3.30E+02	3/00/00/00	5/00/00/00	1.85E+02	3.30E+02	-	<100	-	<100	
7	A7	Eau usée brute, Merville	292	16/16/16/2/00	16/16/16/4/00	2.86E+05	3.60E+05	16/16/16/2/00	16/16/16/4/00	2.86E+05	3.60E+05	9.89	1.22E+04	9.23	2.87E+04	
8	A8	Eau usée brute, Bierné	51	16/16/3/1/00	16/16/7/00/00	3.53E+04	5.31E+04	16/16/3/1/00	16/16/7/00/00	3.53E+04	5.31E+04	10.09	9.75E+03	10.11	9.54E+03	
9	A9	Eau usée brute, Boescheppe	366	16/16/16/10/4/0	16/16/16/9/1/0	1.21E+06	7.97E+05	16/16/16/10/4/0	16/16/16/9/1/0	1.21E+06	7.97E+05	8.79	5.56E+04	8.97	4.20E+04	
10	A10	Effluent de station, Neuf Berquin	4	16/6/1/00/00	16/5/0/00/00	5.17E+03	4.08E+03	16/6/1/00/00	16/6/0/00/00	5.17E+03	4.63E+03	-	<100	-	<100	
11	A11	Effluent de station, Saulzoir	7	16/10/00/00	13/4/00/00/00	2.56E+03	1.82E+03	16/2/00/00/00	13/5/00/00/00	2.86E+03	2.00E+03	-	<100	-	<100	
12	A12	Effluent de station, Boescheppe	7	16/12/5/1/00	16/11/1/00/00	1.84E+04	1.07E+04	16/12/5/1/00	16/13/1/10/00	1.84E+04	1.56E+04	8.41	1.05E+05	8.23	1.45E+05	
13	B1	Effluent de station, Sommaing	2	14/8/1/00/00	11/3/00/00/00	2.77E+03	1.27E+03	14/8/1/00/00	11/3/00/00/00	2.77E+03	1.27E+03	-	<100	-	<100	
14	B2	Eau usée brute, Saulzoir	311	16/16/16/16/2/00	16/16/16/12/2/2	2.90E+06	1.58E+06	16/16/16/16/2/00	16/16/16/12/2/2	2.90E+06	1.58E+06	7.02	1.08E+06	6.86	1.31E+06	
15	B3	Eau usée brute, Sommaing	287	16/16/16/15/4/00	16/16/16/14/4/00	2.71E+05	2.21E+05	16/16/16/15/4/00	16/16/16/14/4/00	2.71E+05	2.21E+05	5.91	4.03E+06	6.06	3.38E+06	
16	B4	Eau usée brute, Villers Sire Nicole	264	16/16/11/2/00	16/16/10/3/00/00	1.17E+05	1.11E+05	16/16/11/2/00	16/16/10/3/00/00	1.17E+05	1.11E+05	8.64	7.10E+04	9.57	1.81E+04	
17	B5	Eau usée brute, Cousloire	84	16/15/7/00/00	16/15/3/00/00	3.56E+04	2.48E+04	16/15/7/00/00	16/15/3/00/00	3.56E+04	2.48E+04	9.41	2.23E+04	9.33	2.49E+04	
18	B6	Effluent de station, Solesmes	2	1/00/00/00	2/00/00/00	5.80E+01	1.88E+02	1/00/00/00	3/00/00/00	5.80E+01	1.88E+02	-	<100	-	<100	
19	B7	Eau usée brute, Bois Grenier	222	16/16/16/11/00	16/16/16/6/00/00	9.71E+05	4.63E+05	16/16/16/11/00	16/16/16/6/00/00	9.71E+05	4.63E+05	6.82	1.37E+06	6.98	1.14E+06	
20	B8	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	27	13/1/00/00/00	6/2/00/00/00	1.44E+03	5.58E+02	13/1/00/00/00	7/3/00/00/00	1.44E+03	5.58E+02	-	<100	-	<100	
21	B9	Effluent - Conserverie, St Pol ZI	348	16/15/8/10/00	16/16/9/1/00/00	4.24E+04	7.95E+04	16/16/16/1/00	16/16/15/6/00/00	2.57E+05	3.24E+05	9.72	1.50E+04	8.57	7.98E+04	
22	B10	Effluent - Eau épurée St Pol ZI	8	2/00/00/00/00	0/00/00/00/00	1.19E+02	<58	0/00/00/00/00	0/00/00/00/00	1.19E+02	<58	-	<100	-	<100	
23	C1	Effluent de station, Bierné	1	0/00/00/00/00	0/00/00/00/00	<58	<58	0/00/00/00/00	0/00/00/00/00	<58	<58	-	<100	-	<100	
24	C2	Effluent de station, Avesnes sur Helpe	2	11/4/00/00/00	14/3/00/00/00	1.38E+03	2.02E+03	11/4/00/00/00	14/3/00/00/00	1.38E+03	2.02E+03	9.73	1.50E+04	-	<100	
25	C3	Effluent de station, Doullens	3	16/10/3/1/10	16/9/3/00/00/00	1.30E+04	9.68E+03	16/10/3/1/10	16/9/3/00/00/00	1.30E+04	9.68E+03	10.92	4.50E+03	8.90	4.60E+04	
26	C4	Effluent de station, Bayv	2	5/30/00/00/00	7/100/00/00/00	5.37E+02	5.76E+02	5/30/00/00/00	7/100/00/00/00	5.37E+02	5.76E+02	10.18	8.90E+03	9.69	1.60E+04	
27	C5	Effluent de station, La Longueville	<1	12/3/00/00/00	7/30/00/00/00	1.47E+03	7.30E+02	12/3/00/00/00	7/30/00/00/00	1.47E+03	7.30E+02	10.15	9.10E+03	10.17	8.90E+03	
28	C6	Effluent, Béthune	7	0/00/00/00/00	0/00/00/00/00	<58	<58	0/00/00/00/00	0/00/00/00/00	<58	<58	11.90	2.60E+03	-	<100	
29	C7	Effluent de station, Bierné	4	2/00/00/00/00	1/00/00/00/00	1.19E+02	5.80E+01	3/00/00/00/00	1/00/00/00/00	1.85E+02	5.80E+01	-	<100	-	<100	
30	C8	Effluent de station, Le Cateau Cambresis	2	16/2/00/00/00	16/4/00/00/00	2.86E+03	3.59E+03	16/5/00/00/00	16/5/00/00/00	4.06E+03	4.06E+03	9.26	2.80E+04	9.43	2.20E+04	
31	C9	Effluent de station, Rieux en Cambresis	3	16/7/00/00/00	15/6/00/00/00	5.31E+03	3.24E+03	16/8/00/00/00	15/7/00/00/00	6.14E+03	3.56E+03	9.65	1.60E+04	9.62	1.70E+04	
32	C10	Effluent de station, Beaudignies	9	15/4/00/00/00	15/1/1000/00/00	2.70E+03	2.22E+03	15/4/00/00/00	15/1/1000/00/00	2.70E+03	2.22E+03	10.69	5.50E+03	10.47	6.60E+03	
33	C11	Eau usée brute, Lecelles	312	16/16/16/4/1/00	16/16/16/9/2/1	3.99E+05	9.67E+05	16/16/16/4/1/00	16/16/16/9/2/1	3.99E+05	9.67E+05	7.58	5.60E+05	8.68	6.70E+04	
34	C12	Eau usée brute, Bierné	28	16/15/2/00/00	16/16/7/00/00/00	2.24E+04	5.31E+05	16/15/2/00/00	16/16/7/00/00/00	2.24E+04	5.31E+05	8.73	6.10E+04	8.75	5.90E+04	
35	C13	Eau usée brute, Carnignies	19	3/10/00/00/00	4/00/00/00/00	2.47E+02	2.55E+02	3/10/00/00/00	4/00/00/00/00	2.47E+02	2.55E+02	-	<100	-	<100	
36	C14	Eau usée brute, Entroingt	172	16/16/14/2/1/00	16/16/15/6/00/00	2.01E+05	3.24E+05	16/16/14/2/1/00	16/16/15/6/00/00	2.01E+05	3.24E+05	7.54	5.80E+05	7.36	7.30E+05	
37	C15	Eau usée brute, Socx	38	16/7/1/00/00/00	16/9/2/00/00/00	5.94E+03	8.80E+03	16/7/1/00/00/00	16/11/2/00/00/00	5.94E+03	1.17E+04	-	<100	-	<100	
38	D1	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	18	15/4/00/00/00	14/2/00/00/00	2.70E+03	1.86E+03	15/4/00/00/00	14/2/00/00/00	2.70E+03	1.86E+03	-	<100	-	<100	
39	D2	Effluent de station, Bierné	6	1/00/00/00/00	3/1000/00/00/00	5.80E+01	2.47E+02	1/00/00/00/00	3/1000/00/00/00	5.80E+01	2.47E+02	-	<100	-	<100	
40	D3	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	14	9/20/00/00/00	12/4/00/00/00	8.78E+02	1.59E+03	9/20/00/00/00	12/4/00/00/00	8.78E+02	1.59E+03	-	<100	-	<100	
41	D4	Effluent de station, Bantouzelle	8	3/10/00/00/00	6/00/00/00/00	2.47E+02	4.12E+02	3/10/00/00/00	7/00/00/00/00	2.47E+02	5.00E+02	-	<100	-	<100	
42	D5	Effluent de station, Bierné	6	2/10/00/00/00	2/00/00/00/00	1.80E+02	1.19E+02	2/10/00/00/00	2/00/00/00/00	1.80E+02	1.19E+02	-	<100	-	<100	
43	D6	Effluent de station, Steene	9	16/13/4/1/00	16/15/1/00/00/00	1.99E+04	2.04E+04	16/13/4/1/00	16/15/1/00/00/00	1.99E+04	2.56E+04	-	<100	-	<100	
44	D7	Effluent de station, Landrecies	8	16/16/6/1/00	16/16/6/1/00	5.17E+04	5.17E+04	16/16/6/1/00	16/16/7/1/00	5.17E+04	5.94E+04	-	<100	-	<100	

Résultats détaillés

Domaine d'application : eaux usées

Code	Méthode alternative XplOren64 CheckN'Safe Enterococci									
	Filtration 10 mL					Filtration 100 mL				
	DT (heures)	Réponse dans 100 mL	DT (heures)	Réponse dans 100 mL	R2	DT (heures)	Réponse dans 100 mL	DT (heures)	Réponse dans 100 mL	R2
110105step1	1	A1	10.87	4.71E+02	10.07	9.96E+02	8.89	4.75E+02	9.02	3.90E+02
110110step2	2	A2	-	<10	11.04	4.15E+02	9.13	3.31E+02	9.75	1.44E+02
110110step3	3	A3	7.84	3.02E+04	7.83	3.08E+04	-	<1	-	<1
110111step4	4	A4	-	<10	-	-	-	<1	-	<1
110111step5	5	A5	7.36	7.25E+04	7.48	6.29E+04	-	<1	-	<1
110112step6	6	A6	-	<10	-	<10	9.80	1.36E+02	9.32	2.52E+02
110112step7	7	A7	6.92	1.22E+05	7.04	1.06E+05	-	-	-	-
110114step8	8	A8	8.92	4.54E+03	8.95	4.33E+03	-	-	-	-
110114step9	9	A9	5.50	6.55E+05	7.27	8.07E+04	-	-	-	-
110118step10	10	A10	9.36	2.39E+03	10.16	9.04E+02	7.86	2.90E+03	7.99	2.26E+03
110118step11	11	A11	9.31	2.56E+03	10.88	4.67E+02	8.39	1.09E+03	7.93	2.53E+03
110118step12	12	A12	8.47	9.46E+03	8.33	1.21E+04	7.27	8.07E+03	7.23	8.46E+03
110118step13	13	B1	9.94	1.15E+03	10.31	7.75E+02	8.93	4.47E+02	-	<1
110119step14	14	B2	6.32	2.48E+05	6.49	2.03E+05	-	-	-	-
110119step15	15	B3	6.62	1.74E+05	5.86	4.28E+05	-	-	-	-
110119step16	16	B4	7.03	1.07E+05	7.07	1.02E+05	-	-	-	-
110119step17	17	B5	7.63	5.27E+04	7.21	8.66E+04	6.26	2.67E+04	5.21	9.24E+04
110125step18	18	B6	-	<10	-	<10	10.34	7.50E+01	10.34	7.50E+01
110125step19	19	B7	6.38	2.31E+05	6.99	1.12E+05	-	-	-	-
110125step20	20	B8	9.84	1.29E+03	9.87	1.25E+03	6.59	1.80E+04	7.65	5.15E+03
110125step21	21	B9	-	<10	-	<10	-	-	-	-
110125step22	22	B10	-	<10	-	<10	10.25	8.20E+01	10.12	9.40E+01
110126step23	23	C1	-	<10	11.43	3.20E+02	9.30	2.60E+02	11.22	3.70E+01
110126step24	24	C2	9.40	2.30E+03	-	<10	8.05	2.00E+03	8.08	1.90E+03
110126step25	25	C3	9.23	2.90E+03	9.68	1.60E+03	7.99	2.20E+03	7.62	5.40E+03
110126step26	26	C4	10.54	6.20E+02	10.91	4.60E+02	8.38	1.10E+03	9.49	2.00E+02
110126step27	27	C5	9.69	1.60E+03	9.92	1.20E+03	8.51	8.90E+02	8.36	1.10E+03
110131step28	28	C6	11.20	3.70E+02	-	<10	-	<1	-	<1
110131step29	29	C7	11.45	3.20E+02	11.00	4.30E+02	10.17	9.00E+01	9.20	3.00E+02
110131step30	30	C8	8.93	4.50E+03	8.89	4.70E+03	8.72	6.30E+02	7.37	7.20E+03
110131step31	31	C9	8.74	6.00E+03	8.82	5.30E+03	8.43	1.00E+03	7.14	9.40E+03
110131step32	32	C10	8.90	4.70E+03	8.93	4.50E+03	8.11	1.80E+03	7.33	7.50E+03
110131step33	33	C11	7.71	3.40E+04	-	<10	-	-	-	-
110131step34	34	C12	8.34	1.20E+04	8.67	6.70E+03	-	-	-	-
110131step35	35	C13	11.19	3.70E+02	10.97	4.40E+02	-	-	-	-
110131step36	36	C14	8.06	2.00E+04	7.88	2.80E+04	-	-	-	-
110131step37	37	C15	-	<10	-	<10	-	<1	-	<1
110204step38	38	D1	-	<10	-	<10	-	<1	-	<1
110204step39	39	D2	-	<10	-	<10	-	<1	-	<1
110207step40	40	D3	-	<10	-	<10	13.60	8.40E+00	-	<1
110207step41	41	D4	-	<10	-	<10	8.83	5.20E+02	8.84	5.10E+02
110207step42	42	D5	-	<10	-	<10	8.96	4.30E+02	8.62	7.30E+02
110207step43	43	D6	-	<10	-	<10	7.30	7.80E+03	8.61	7.50E+02
110207step44	44	D7	-	<10	-	<10	5.93	4.00E+04	6.06	3.40E+04

Synthèse des résultats [log(Enterococci/100 mL)]

Domaine d'application : eaux usées

Code	Echantillon d'eau	MES en mg/L	NF EN ISO 7899-1		Méthode alternative Xplorer64 CheckN'Safe Enterococci					
			Lecture après 72 h d'incubation		Ensemencement 1 mL		Filtration 10 mL		Filtration 100 mL	
			R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	A1	Effluent de station d'épuration, Solesmes	3.01	2.94	3.83	2.67	3.00	2.68	2.59	
2	A2	Effluent de station d'épuration, Saulzoir	2.61	2.70			2.62	2.52	2.16	
3	A3	Eau usée brute, Solesmes	5.10	5.05	3.96	4.48	4.49			
4	A4	Effluent de station, Bierne		1.76						
5	A5	Eau usée brute, Cysaing	5.50	5.54	5.93	4.86	4.80			
6	A6	Effluent de station, Oxelaere	2.27	2.52					2.40	
7	A7	Eau usée brute, Merville	5.46	5.56	4.09	5.09	5.02			
8	A8	Eau usée brute, Bierne	4.55	4.73	3.99	3.86	3.64			
9	A9	Eau usée brute, Boeschepe	6.08	5.90	4.75	5.82	4.91			
10	A10	Effluent de station, Neuf Berquin	3.71	3.67			2.96	3.46	3.35	
11	A11	Effluent de station, Saulzoir	3.46	3.30			2.67	3.04	3.40	
12	A12	Effluent de station, Boeschepe	4.27	4.19	5.02	5.16	4.08	3.91	3.93	
13	B1	Effluent de station, Sommaing	3.44	3.11			2.89	2.65		
14	B2	Eau usée brute, Saulzoir	6.46	6.20	6.03	6.12	5.31			
15	B3	Eau usée brute, Sommaing	6.43	6.34	6.61	6.53	6.63			
16	B4	Eau usée brute, Villers Sire Nicole	5.07	5.05	4.85	4.26	5.03			
17	B5	Eau usée brute, Cousolre	4.55	4.39	4.35	4.40	4.94	4.43	4.97	
18	B6	Effluent de station, Solesmes	1.76	2.27				1.88	1.88	
19	B7	Eau usée brute, Bois Grenier	5.99	5.67	6.14	6.06	5.05			
20	B8	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	3.16	2.75			3.10	4.26	3.71	
21	B9	Effluent - Conserverie, St Pol ZI	5.41	5.51	4.18	4.90				
22	B10	Effluent - Eau épurée St Pol ZI	2.08							
23	C1	Effluent de station, Bierne					2.51	1.91	1.97	
24	C2	Effluent de station, Avesnes sur Helpes	3.14	3.31	4.18	3.56		2.41	1.57	
25	C3	Effluent de station, Doullens	4.11	3.99	3.65	4.66	3.20	3.30	3.28	
26	C4	Effluent de station, Bavay	2.73	2.76	3.95	4.20	2.66	3.34	3.73	
27	C5	Effluent de station, La Longueville	3.17	2.86	3.96	3.95	3.08	3.04	2.30	
28	C6	Effluent, Béthune	/		3.41	2.57		2.95	3.04	
29	C7	Effluent de station, Bierne	2.27	1.76			2.63	1.95	2.48	
30	C8	Effluent de station, Le Cateau Cambresis	3.61	3.61	4.45	4.34	3.67	2.80	3.86	
31	C9	Effluent de station, Rieux en Cambresis	3.79	3.55	4.20	4.23	3.72	3.00	3.97	
32	C10	Effluent de station, Beaudignies	3.43	3.35	3.74	3.82	3.65	3.26	3.88	
33	C11	Eau usée brute, Lecelles	5.60	5.99	5.75	4.53				
34	C12	Eau usée brute, Bierne	4.35	5.73	4.79	4.77	3.83			
35	C13	Eau usée brute, Cartignies	2.39	2.41			2.64			
36	C14	Eau usée brute, Etroingt	5.30	5.51	5.76	5.86	4.45			
37	C15	Eau usée brute, Socx	3.77	4.07						
38	D1	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	3.43	3.27						
39	D2	Effluent de station, Bierne	1.76	2.39						
40	D3	Effluent de station, Beauvois en Cambresis	2.94	3.20				0.92	2.71	
41	D4	Effluent de station, Bantouzelle	2.39	2.70				2.72	2.86	
42	D5	Effluent de station, Bierne	2.26	2.08				2.63	2.86	
43	D6	Effluent de station, Steene	4.30	4.41				3.89	2.88	
44	D7	Effluent de station, Landrecies	4.71	4.77				4.60	4.53	

Prise d'essai : 1 mL
21 eaux usées

Ech	Rang	Méthode de référence				Méthode alternative			
		Rep.1	Rep.2	Mx	svi interne	Rep.1	Rep.2	My	svi interne
A3	1	5.10	5.05	5.07716	0.03709	3.96	3.88	3.92088	0.05666
A5	2	5.50	5.54	5.52077	0.02741	5.93	5.92	5.92473	0.01096
A7	3	5.46	5.56	5.50652	0.07031	4.09	4.46	4.27212	0.26271
A8	4	4.55	4.73	4.63676	0.12529	3.99	3.98	3.98428	0.00669
A9	5	6.08	5.90	5.99226	0.12851	4.75	4.62	4.68416	0.08614
A12	6	4.27	4.19	4.22979	0.05040	5.02	5.16	5.09128	0.09912
B2	7	6.46	6.20	6.33066	0.18680	6.03	6.12	6.07535	0.05929
B3	8	6.43	6.34	6.38942	0.08331	6.61	6.53	6.56711	0.05401
B4	9	5.07	5.05	5.05651	0.01578	4.85	4.26	4.55447	0.41972
B5	10	4.55	4.39	4.47111	0.11343	4.35	4.40	4.37225	0.03387
B7	11	5.99	5.67	5.82644	0.22709	6.14	6.06	6.09681	0.05644
B9	12	5.41	5.51	5.46026	0.07173	4.18	4.90	4.53905	0.51330
C3	13	4.11	3.99	4.04931	0.08990	3.65	4.66	4.15799	0.71386
C4	14	2.73	2.76	2.74520	0.02153	3.95	4.20	4.07675	0.18012
C5	15	3.17	2.86	3.01532	0.21486	3.96	3.95	3.95422	0.00682
C8	16	3.61	3.61	3.60855	0.00000	4.45	4.34	4.39479	0.07406
C9	17	3.79	3.55	3.66976	0.16766	4.20	4.23	4.21728	0.01862
C10	18	3.43	3.35	3.38883	0.05924	3.74	3.82	3.77995	0.05599
C11	19	5.60	5.99	5.79295	0.27201	5.75	4.83	5.28713	0.65203
C12	20	4.35	5.73	5.03798	0.97188	4.79	4.77	4.77809	0.01024
C14	21	5.30	5.51	5.40679	0.14735	5.78	5.86	5.81338	0.07064

Médiane x	5.05651	0.08990
Moyenne x	4.81960	

Médiane y	4.53905	0.05929
Moyenne y	4.78772	

écart-type de répétabilité global	Srx	0.24661
écart-type de répétabilité robuste	Rob Swx	0.13328

Sry	0.26915
Rob Swy	0.08790

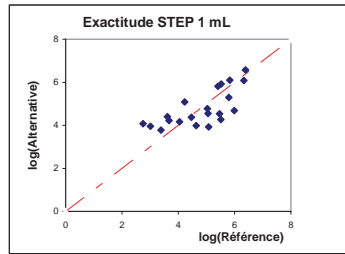
R	1.09140
Rob.R	0.65953

n =	2
q =	21
nq =	42

0.5 < R < 2	GMFR	Calcul sur les moyennes des deux méthodes
R > 2	OLS	
R < 0.5	OLS chgi	

Régression GMFR
Ecart-types globaux

Vxi	Vyi	
0.13404	1.50603	
0.98402	2.58570	
0.94867	0.60069	
0.08256	1.29108	
2.76679	0.02887	
0.69829	0.19412	
4.80148	3.31950	
4.92641	6.33540	
0.11250	0.28498	
0.25576	0.34637	
2.07900	3.43065	
0.82603	0.38715	
1.19479	1.30272	
8.80676	1.04338	
6.55707	1.98950	
2.93186	0.31427	
2.67239	0.65113	
4.09773	2.03431	
1.96879	0.92398	
1.03953	0.00029	
0.71129	2.10894	
Vx	Vy	Vxy
1.17552	0.73364	0.62739
Sx	Sy	
1.08421	0.85653	



Estimation des paramètres

sur les moyennes	r =	0.71987
	b =	0.79000
	a =	0.98024

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

Sy.x =	0.923549887
--------	-------------

yi estimés	résidus	Smy.x
4.99118	-1.07030	0.65305
5.34164	0.58309	
5.30338	-1.05826	
4.64327	-0.65900	
5.71412	-1.02996	
4.32177	0.76951	
5.89146	0.09390	
6.02708	0.54003	
4.97488	-0.42041	
4.51241	-0.14016	
5.58311	0.51370	
5.29384	-0.75479	
4.17919	-0.02120	
3.14894	0.92781	
3.36234	0.59188	
3.83122	0.56357	
3.87934	0.33794	
3.65741	0.12254	
5.55666	-0.26952	
4.96023	-0.18214	
5.25159	0.56178	

Ecart-types des paramètres

S(a)	0.66458	t(a)	1.47498	p(a=0)	0.15660
S(b)	0.13468	t(b)	1.55922	p(b=1)	0.13545

Répétabilité = 2,8 Sr

	Méthode de référence	Méthode alternative
Sr	0.24661	0.26915
r	0.69052	0.75363
Rob.Sr	0.13328	0.08790
Rob.r	0.37318	0.24613

Biais

Différences	
-1.15628	
0.40396	
-1.23440	
-0.65249	
-1.30810	
0.86149	
-0.25531	
0.17869	
-0.50204	
-0.09886	
0.27038	
-0.92121	
0.10868	
1.33156	
0.93890	
0.78594	
0.54753	
0.39112	
-0.50581	
-0.25989	
0.40659	
D = -0.03188	moyenne
D = 0.10868	médiane

Prise d'essai : 10 mL
26 eaux usées

Ech	Rang	Méthode de référence				Méthode alternative			
		Rep.1	Rep.2	Moi	ssi interne	Rep.1	Rep.2	Moi	ssi interne
A1	1	3.01	2.94	2.97455	0.04392	2.67	3.00	2.83564	0.22998
A3	2	5.10	5.05	5.07716	0.03709	4.48	4.49	4.48436	0.06064
A5	3	5.50	5.54	5.52077	0.02741	4.86	4.80	4.82962	0.04362
A7	4	5.46	5.36	5.50652	0.07031	5.09	5.02	5.05578	0.04362
A8	5	4.55	4.73	4.63676	0.12529	3.66	3.64	3.64673	0.01420
A9	6	6.08	5.90	5.99226	0.12851	5.82	4.91	5.36161	0.64331
A10	7	3.71	3.67	3.68923	0.03394	3.38	2.96	3.16719	0.29643
A11	8	3.46	3.30	3.37906	0.10912	3.41	2.67	3.03878	0.52250
A12	9	4.27	4.19	4.22970	0.06940	3.98	4.08	4.02962	0.07511
B1	10	3.44	3.11	3.27998	0.23874	3.06	2.89	2.97538	0.12173
B2	11	6.46	6.20	6.33066	0.18880	5.40	5.31	5.35133	0.06179
B3	12	6.43	6.34	6.38942	0.06331	5.24	5.63	5.43614	0.27622
B4	13	5.07	5.35	5.05651	0.01578	5.03	5.01	5.01980	0.01454
B5	14	4.55	4.39	4.47111	0.11343	4.72	4.94	4.82962	0.15265
B7	15	5.99	5.67	5.82644	0.22709	5.36	5.05	5.20741	0.22171
B8	16	3.16	2.75	2.95187	0.29245	3.11	3.10	3.10425	0.01087
C3	17	4.11	3.99	4.04931	0.08990	3.46	3.20	3.33226	0.18263
C4	18	2.73	2.76	2.74520	0.02153	2.79	2.66	2.72757	0.09166
C5	19	3.17	2.86	3.01532	0.21496	3.20	3.08	3.14165	0.08835
C7	20	2.27	1.76	2.01530	0.35620	2.51	2.63	2.56931	0.09073
C8	21	3.61	3.61	3.60885	0.00000	3.65	3.67	3.66266	0.01335
C9	22	3.79	3.55	3.66976	0.16766	3.78	3.72	3.75121	0.03810
C10	23	3.43	3.35	3.38883	0.05924	3.67	3.65	3.66266	0.01335
C12	24	4.35	5.73	5.03798	0.97188	4.08	3.83	3.95263	0.17897
C13	25	2.39	2.41	2.39962	0.00979	2.57	2.64	2.60583	0.05321
C14	26	5.30	5.51	5.40679	0.14735	4.30	4.45	4.37409	0.10333

Médiane x	4.13955	0.09951
Moyenne x	4.25546	

Médiane y	3.70693	0.08954
Moyenne y	3.92897	

écart-type de répétabilité global	Srx	0.23879
écart-type de répétabilité robuste	Rob Swx	0.14753

Sry	0.20675
Rob Swy	0.13275

R	0.86581
Rob.R	0.89983

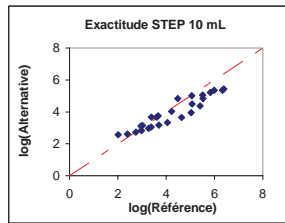
n =	2
q =	26
nq =	52

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	
3.28339	2.44365	
1.35173	0.61695	
3.20275	1.62422	
3.13525	2.54128	
0.30948	0.15953	
0.04947	4.61874	
0.64239	1.24968	
1.54809	1.85790	
0.00386	0.02558	
1.98361	1.83351	
8.64777	4.05001	
9.10304	4.61940	
1.28361	2.38001	
0.10587	1.64562	
4.98748	3.31795	
3.48424	1.36046	
0.09308	0.74311	
4.56226	2.89512	
3.12211	1.24756	
10.16354	3.70561	
0.83622	0.14203	
0.71421	0.06465	
1.50562	0.14203	
2.16921	0.03315	
6.88841	3.50426	
2.67282	0.40694	
Vx	Vy	Vxy
1.60463	0.92410	1.10386
Sx	Sy	
1.26682	0.96130	



Estimation des paramètres

sur les moyennes	r =	0.94397
	b =	0.75883
	a =	0.69981

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

Sy.x =	0.464185323
--------	-------------

yi estimés	résidus	Smy.x
2.95698	-0.12134	0.32823
4.55250	-0.06813	
4.88912	-0.05951	
4.87831	0.17746	
4.21831	-0.57159	
5.24691	0.11470	
3.49930	-0.33211	
3.26393	-0.22515	
3.90949	0.11932	
3.18420	-0.20882	
5.50369	-0.15236	
5.54762	-0.11139	
4.53683	0.48297	
4.09261	0.73701	
5.12107	0.08634	
2.93977	0.16448	
3.77254	-0.43928	
2.78294	-0.05537	
2.98792	0.15373	
2.22967	0.34024	
3.43830	0.22435	
3.49452	0.26669	
3.27135	0.39131	
4.52277	-0.57014	
2.52071	0.08512	
4.80263	-0.42854	

Ecart-types des paramètres

S(a)	0.22972	t(a)	3.04637	p(a=0)	0.00556
S(b)	0.05162	t(b)	4.85409	p(b=1)	0.00010

Répétabilité

= 2,8 Sr

	Méthode de référence	Méthode alternative
Sr		0.20675
r	0.68861	0.57889
Rob.Sr	0.14753	0.13275
Rob.r	0.41308	0.37171

Biais

Différences
-0.13891
-0.59279
-0.69115
-0.45075
-0.99003
-0.63066
-0.52203
-0.34028
-0.20098
-0.29860
-0.97933
-0.95228
-0.03671
0.35851
-0.61903
0.15238
-0.71605
-0.01762
0.12633
0.55401
0.05381
0.08146
0.27383
-1.08535
0.20621
-1.03270
D = -0.32349
D = -0.31944

moyenne
médiane

Prise d'essai : 100 mL
21 eaux usées

Ech	Rang	Méthode de référence			Méthode alternative				
		Rep. 1	Rep. 2	svi interne	Rep. 1	Rep. 2	svi interne		
A1	1	3.01	2.84	2.97455	0.04302	2.68	2.59	2.63388	0.06055
A2	2	2.61	2.70	2.65693	0.05945	2.52	2.16	2.33910	0.25559
A6	3	2.27	2.52	2.39284	0.17773	2.13	2.40	2.26747	0.18941
A10	4	3.71	3.67	3.69923	0.03384	3.46	3.35	3.40836	0.07727
A11	5	3.46	3.30	3.37906	0.10912	3.04	3.40	3.21982	0.26500
A12	6	4.27	4.19	4.22979	0.05040	3.91	3.93	3.91699	0.01454
B5	7	4.55	4.39	4.47111	0.11343	4.43	4.97	4.69570	0.38164
B6	8	1.76	2.27	2.01530	0.35620	1.88	1.88	1.87506	0.00000
B8	9	3.16	2.75	2.95187	0.29245	4.28	3.71	3.98381	0.38527
C2	10	3.14	3.31	3.22319	0.11649	3.30	3.28	3.29889	0.01575
C3	11	4.11	3.99	4.04931	0.08990	3.34	3.73	3.53741	0.27575
C4	12	2.73	2.76	2.74520	0.02153	3.04	2.30	2.67121	0.52352
C5	13	3.17	2.86	3.01532	0.21496	2.95	3.04	2.99539	0.06506
C7	14	2.27	1.76	2.01530	0.35620	1.95	2.48	2.21566	0.36973
C8	15	3.61	3.61	3.60885	0.00000	2.80	3.86	3.32834	0.74811
C9	16	3.79	3.55	3.66976	0.16766	3.00	3.97	3.48656	0.68811
C10	17	3.43	3.35	3.38883	0.05924	3.26	3.88	3.56517	0.43826
D4	18	2.38	2.70	2.54583	0.21657	2.72	2.71	2.71179	0.00596
D5	19	2.26	2.08	2.16541	0.12709	2.63	2.86	2.74840	0.16253
D6	20	4.30	4.41	4.35402	0.07755	3.89	2.88	3.38358	0.71915
D7	21	4.71	4.77	4.74363	0.04303	4.60	4.53	4.56677	0.04991

Médiane x	3.22319	0.10912	Médiane y	3.28989	0.25559
Moyenne x	3.25168		Moyenne y	3.18287	

écart-type de répétabilité global	Srx	0.16557	Sry	0.36092
écart-type de répétabilité robuste	Rob Swx	0.16178	Rob Swy	0.37894

R	2.17990
Rob.R	2.34237

n =	2
q =	21
nq =	42

0.5 < R < 2	GMFR
R > 2	OLS
R < 0.5	OLS chgt

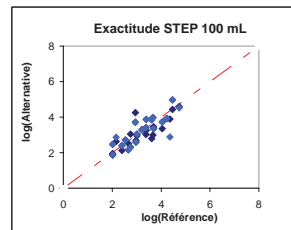
Calcul sur les données individuelles alternative et les moyennes référence

Régression OLS

y = a + bx

Ecart-types globaux

Vxi	Vyi	"SPE"
0.07890	0.60646	0.30429
0.33373	1.48926	1.00387
0.73761	1.71181	1.57237
0.19145	0.10766	0.19732
0.01622	0.07943	0.00941
0.95670	1.07806	1.43809
1.48700	4.72294	3.68956
1.52864	3.42075	3.23391
0.08989	1.43143	-0.48026
0.00081	0.02315	-0.00610
0.63621	0.32743	0.55657
0.25653	0.79767	0.51830
0.05587	0.07453	0.08863
1.52864	2.00762	2.39164
0.12757	0.60199	0.10391
0.17479	0.65794	0.25393
0.01881	0.48436	0.10486
0.49822	0.44388	0.66503
1.17999	0.40396	0.94393
1.21514	0.59774	0.44248
2.22592	3.83282	4.12941
Vx	Vy	Vxy
0.65154	0.60712	0.51629
Sx	Sy	
0.80718	0.77918	



Estimation des paramètres

sur les données individuelles	
r =	0.82090
b =	0.79242
a =	0.60617

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

Syx =	0.65536293
-------	------------

Yk estimés		résidus : yk - Yk estimés	
2.98788	2.93866	-0.31119	-0.34760
2.67827	2.74489	-0.15844	-0.58653
2.46273	2.60190	-0.26919	-0.20050
3.54855	3.51063	-0.08556	-0.15691
3.34495	3.22267	-0.30912	0.18114
3.98619	3.92971	-0.07948	-0.00244
4.21273	4.08561	0.21311	0.87994
2.00355	2.40273	-0.12849	-0.52767
3.10917	2.78143	1.14707	0.92996
3.09503	3.22557	0.20600	0.05318
3.86530	3.76456	-0.52288	-0.03216
2.76946	2.79359	0.27183	-0.49256
3.11602	2.87513	-0.16663	0.16626
2.40273	2.00355	-0.44849	0.47357
3.46590	3.46590	-0.66656	0.39143
3.60811	3.42022	-0.60811	0.55290
3.32475	3.25836	-0.06948	0.61670
2.50220	2.74489	0.21381	-0.03732
2.39330	2.25088	0.24017	0.61244
4.01293	4.09984	-0.12084	-1.22478
4.34102	4.38924	0.26104	0.14224

Ecart-types des paramètres

S(a)	0.42453	t(a)	1.42796	p(t=a=0)	0.16956
S(b)	0.12680	t(b)	1.63706	p(t=b=1)	0.11807

Rétabilité

= 2,8 Sr

	Méthode de référence	Méthode alternative
Sr	0.16557	0.36092
r	0.46388	1.01057
Rob.Sr	0.16178	0.37894
Rob.r	0.45298	1.06105

Biais

Différences	
-0.34067	
-0.31784	
-0.12537	
-0.28087	
-0.15924	
-0.31280	
0.22459	
-0.14024	
1.03194	
0.06670	
-0.51190	
-0.07399	
-0.01993	
0.20038	
-0.28051	
-0.18319	
0.17634	
0.16595	
0.58299	
-0.97044	
-0.17687	
-0.06881	
D =	moyenne
D =	médiane
-0.14024	

ANNEXE 4 - Essais complémentaires eaux de baignade

N°	N° Echantillon	Xplorer64 Enterococci						Méthode NPP E. coli (*)			
		R1			R2			R1		R2	
		Pos dét. d'origi	Résultat	log	Pos dét. d'origi	Résultat	log	Résultat	log	Résultat	log
1	Eau douce 1	8,33	1,20E+03	3,079	7,6	5,40E+03	3,732	6,70E+03	3,826	4,20E+03	3,623
2	Eau douce 2	4,88	1,40E+05	5,146	4,24	2,90E+05	5,462	3,90E+05	5,591	3,10E+05	5,491
3	Eau douce 3	5,99	3,70E+04	4,568	5,25	8,80E+04	4,944	5,50E+05	5,74	2,70E+05	5,431
4	Eau douce 4	4,33	2,60E+05	5,415	4,84	1,40E+05	5,146	4,20E+05	5,623	5,40E+05	5,732
5	Eau de mer 1	4,87	1,40E+05	5,146	4,64	1,80E+05	5,255	3,50E+04	4,54	2,80E+04	4,443
6	Eau de mer 2	3,96	4,00E+05	5,602	4,79	1,50E+05	5,176	4,40E+05	5,641	4,40E+05	5,641
7	Eau de mer 3	4,16	3,20E+05	5,505	4,42	2,30E+05	5,362	4,40E+05	5,641	8,20E+05	5,914
8	Eau de mer 4	3,66	5,80E+05	5,763	3,54	6,70E+05	5,826	8,20E+05	5,914	8,20E+05	5,914
9	Eau de mer 5	2,21	3,20E+06	6,505	2,84	1,50E+06	6,176	3,40E+06	6,531	3,40E+06	6,531
10	Eau douce 5	4,82	1,50E+05	5,176	6,43	2,20E+04	4,342	1,60E+05	5,203	1,90E+05	5,267
11	Eau douce 6	4,94	1,30E+05	5,114	4,85	1,40E+05	5,146	1,40E+05	5,16	1,20E+05	5,078
12	Eau douce 7	6,91	1,20E+04	4,079	4,83	1,50E+05	5,176	8,80E+04	4,944	8,40E+04	4,926
13	Eau de mer 6	4,41	2,40E+05	5,38	4,53	2,10E+05	5,322	1,50E+05	5,164	1,50E+05	5,183
14	Eau de mer 7	7,4	6,90E+03	3,839	7,82	3,20E+03	3,505	2,00E+03	3,305	1,80E+03	3,264
15	Eau de mer 8	9,01	3,90E+02	2,591	8,33	1,20E+03	3,079	6,80E+02	2,834	6,70E+02	2,825
16	Eau de mer 9	7,55	5,80E+03	3,763	7,69	4,90E+03	3,69	1,10E+03	3,043	1,40E+03	3,137
17	Eau douce 8	7,37	7,20E+03	3,857	7,5	6,10E+03	3,785	4,40E+02	2,645	4,90E+02	2,686
18	Eau de mer 10	8,7	6,40E+02	2,806	10,92	4,50E+01	1,653	1,60E+03	3,215	1,40E+03	3,141
19	Eau douce 9	5,87	4,20E+04	4,623	8,71	6,30E+02	2,799	2,40E+03	3,388	1,90E+03	3,285
20	Eau douce 10	8	2,20E+03	3,342	7,45	6,60E+03	3,82	9,40E+02	2,975	7,90E+02	2,898

Exactitude relative - Entérocoques - Eaux de baignade - Données en log

Méthode de référence					Méthode alternative					Différence
Echantillon	Répétition 1	Répétition 2	M	SD	Echantillon	Répétition 1	Répétition 2	M	SD	
1	3,826	3,623	3,725	0,144	1	3,079	3,732	3,406	0,462	-0,319
2	5,591	5,491	5,541	0,071	2	5,146	5,462	5,304	0,223	-0,237
3	5,740	5,431	5,586	0,218	3	4,568	4,944	4,756	0,266	-0,829
4	5,623	5,732	5,678	0,077	4	5,415	5,146	5,281	0,190	-0,397
5	4,540	4,443	4,492	0,069	5	5,146	5,255	5,201	0,077	0,709
6	5,641	5,641	5,641	0,000	6	5,602	5,176	5,389	0,301	-0,252
7	5,641	5,914	5,778	0,193	7	5,505	5,362	5,434	0,101	-0,344
8	5,914	5,914	5,914	0,000	8	5,763	5,826	5,795	0,045	-0,120
9	6,531	6,531	6,531	0,000	9	6,505	6,176	6,341	0,233	-0,190
10	5,203	5,267	5,235	0,045	10	5,176	4,342	4,759	0,590	-0,476
11	5,160	5,078	5,119	0,058	11	5,114	5,146	5,130	0,023	0,011
12	4,944	4,926	4,935	0,013	12	4,079	5,176	4,628	0,776	-0,308
13	5,164	5,183	5,174	0,013	13	5,380	5,322	5,351	0,041	0,178
14	3,305	3,264	3,285	0,029	14	3,839	3,505	3,672	0,236	0,388
15	2,834	2,825	2,830	0,006	15	2,591	3,079	2,835	0,345	0,005
16	3,043	3,137	3,090	0,066	16	3,763	3,690	3,727	0,052	0,637
17	2,645	2,686	2,666	0,029	17	3,857	3,785	3,821	0,051	1,156
18	3,215	3,141	3,178	0,052	18	2,806	1,653	2,230	0,815	-0,949
19	3,388	3,285	3,337	0,073	19	4,623	2,799	3,711	1,290	0,375
20	2,975	2,898	2,937	0,054	20	3,342	3,820	3,581	0,338	0,645

q= 20
n= 2
N=qn= 40

Mx= 4,533
MEDx= 5,027
SDbx= 1,257
MEDwx = 0,053
SDwx= 0,085
rob. SDwx= 0,079

My= 4,517
MEDy= 4,758
SDby= 1,078
MEDwy = 0,234
SDwy= 0,453
rob. SDwy= 0,348

M= -0,016
MED= -0,155
Biais

Choix de la méthode

OLS1; x=réf

R= 5,338
rob. R= 4,391

Sx= 1,242
Sy= 1,112

r= 0,906
b= 0,895
a= 0,458

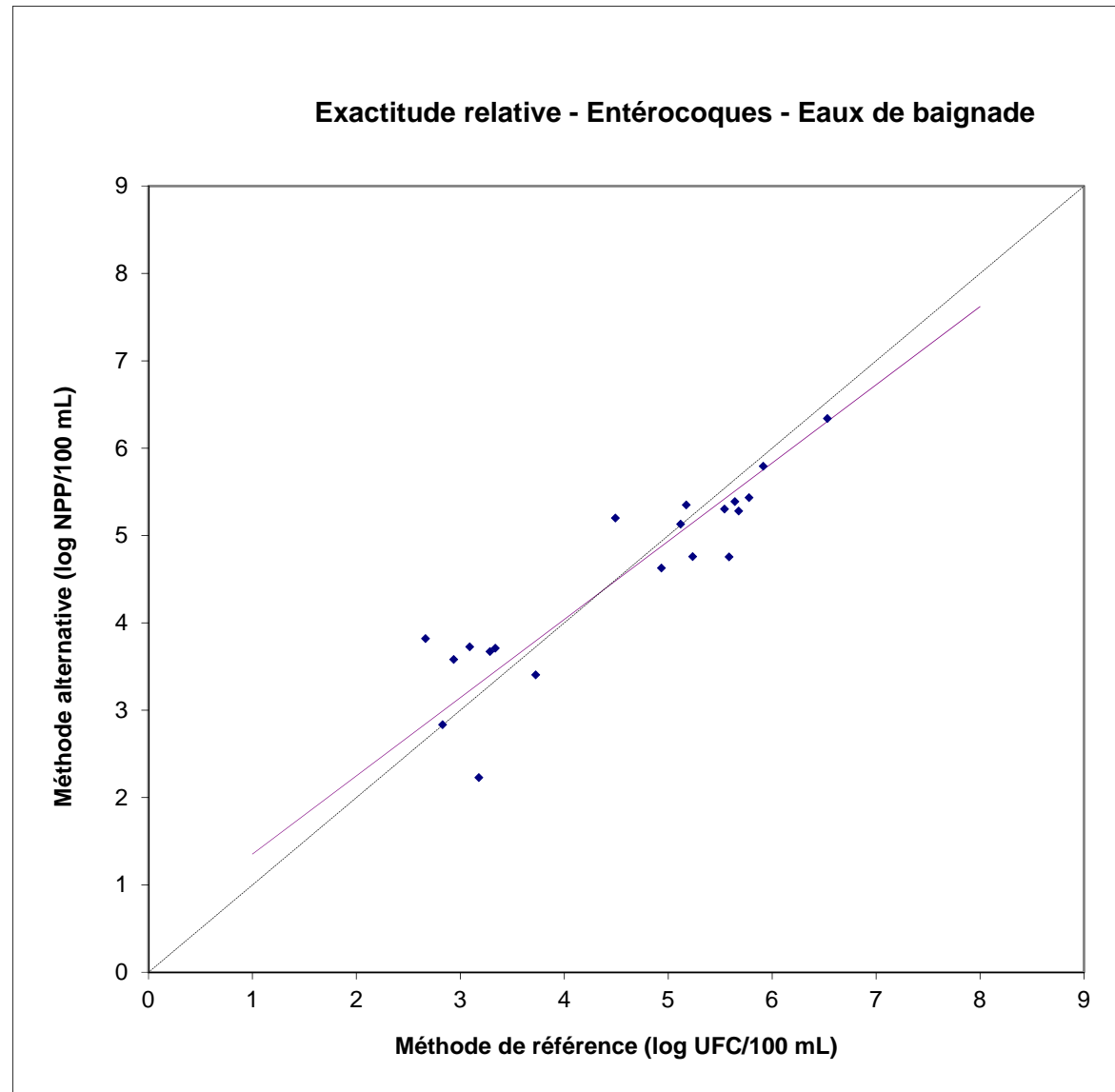
Res. SD= 0,581

S(b)= 0,342 p(t;b=1)= 0,762 t(b)= 0,306
S(a)= 0,352 p(t;a=0)= 0,201 t(a)= 1,303

Répétabilité	Méthode de référence	Méthode alternative
r	0,238	1,269
rob. r	0,222	0,973

M. réf	Alt	Est.Y	Déviaton
3,725	3,079	3,793	-0,714
5,541	5,146	5,420	-0,274
5,586	4,568	5,459	-0,891
5,678	5,415	5,542	-0,127
4,492	5,146	4,480	0,666
5,641	5,602	5,509	0,093
5,778	5,505	5,631	-0,126
5,914	5,763	5,754	0,009
6,531	6,505	6,306	0,199
5,235	5,176	5,146	0,030
5,119	5,114	5,042	0,072
4,935	4,079	4,877	-0,798
5,174	5,380	5,091	0,289
3,285	3,839	3,399	0,440
2,830	2,591	2,992	-0,401
3,090	3,763	3,225	0,538
2,666	3,857	2,845	1,012
3,178	2,806	3,304	-0,498
3,337	4,623	3,446	1,177
2,937	3,342	3,088	0,254
3,725	3,732	3,793	-0,061
5,541	5,462	5,420	0,042
5,586	4,944	5,459	-0,515
5,678	5,146	5,542	-0,396
4,492	5,255	4,480	0,775
5,641	5,176	5,509	-0,333
5,778	5,362	5,631	-0,269
5,914	5,826	5,754	0,072
6,531	6,176	6,306	-0,130
5,235	4,342	5,146	-0,804
5,119	5,146	5,042	0,104
4,935	5,176	4,877	0,299
5,174	5,322	5,091	0,231
3,285	3,505	3,399	0,106
2,830	3,079	2,992	0,087
3,090	3,690	3,225	0,465
2,666	3,785	2,845	0,940
3,178	1,653	3,304	-1,651
3,337	2,799	3,446	-0,647
2,937	3,820	3,088	0,732

Les points représentés correspondent aux moyennes des répétitions de chaque échantillon



Exactitude relative - Entérocoques - Toutes catégories protocole général - Données en log

Méthode de référence					Méthode alternative					Différence
Echantillon	Répétition 1	Répétition 2	M	SD	Echantillon	Répétition 1	Répétition 2	M	SD	
EB1	3,826	3,623	3,725	0,144	EB1	3,079	3,732	3,406	0,462	-0,319
EB2	5,591	5,491	5,541	0,071	EB2	5,146	5,462	5,304	0,223	-0,237
EB3	5,740	5,431	5,586	0,218	EB3	4,568	4,944	4,756	0,266	-0,829
EB4	5,623	5,732	5,678	0,077	EB4	5,415	5,146	5,281	0,190	-0,397
EB5	4,540	4,443	4,492	0,069	EB5	5,146	5,255	5,201	0,077	0,709
EB6	5,641	5,641	5,641	0,000	EB6	5,602	5,176	5,389	0,301	-0,252
EB7	5,641	5,914	5,778	0,193	EB7	5,505	5,362	5,434	0,101	-0,344
EB8	5,914	5,914	5,914	0,000	EB8	5,763	5,826	5,795	0,045	-0,120
EB9	6,531	6,531	6,531	0,000	EB9	6,505	6,176	6,341	0,233	-0,190
EB10	5,203	5,267	5,235	0,045	EB10	5,176	4,342	4,759	0,590	-0,476
EB11	5,160	5,078	5,119	0,058	EB11	5,114	5,146	5,130	0,023	0,011
EB12	4,944	4,926	4,935	0,013	EB12	4,079	5,176	4,628	0,776	-0,308
EB13	5,164	5,183	5,174	0,013	EB13	5,380	5,322	5,351	0,041	0,178
EB14	3,305	3,264	3,285	0,029	EB14	3,839	3,505	3,672	0,236	0,388
EB15	2,834	2,825	2,830	0,006	EB15	2,591	3,079	2,835	0,345	0,005
EB16	3,043	3,137	3,090	0,066	EB16	3,763	3,690	3,727	0,052	0,637
EB17	2,645	2,686	2,666	0,029	EB17	3,857	3,785	3,821	0,051	1,156
EB18	3,215	3,141	3,178	0,052	EB18	2,806	1,653	2,230	0,815	-0,949
EB19	3,388	3,285	3,337	0,073	EB19	4,623	2,799	3,711	1,290	0,375
EB20	2,975	2,898	2,937	0,054	EB20	3,342	3,820	3,581	0,338	0,645
ERSTEP1	3,004	2,943	2,974	0,043	ERSTEP1	2,677	2,591	2,634	0,061	-0,340
ERSTEP2	2,615	2,699	2,657	0,059	ERSTEP2	2,520	2,158	2,339	0,256	-0,318
ERSTEP3	2,267	2,519	2,393	0,178	ERSTEP3	2,134	2,401	2,267	0,189	-0,125
ERSTEP4	3,713	3,666	3,690	0,034	ERSTEP4	3,462	3,354	3,408	0,077	-0,281
ERSTEP5	3,456	3,301	3,379	0,110	ERSTEP5	3,037	3,403	3,220	0,259	-0,158
ERSTEP6	4,265	4,193	4,229	0,051	ERSTEP6	3,907	3,927	3,917	0,014	-0,312
ERSTEP7	4,551	4,391	4,471	0,114	ERSTEP7	4,427	4,966	4,696	0,381	0,225
ERSTEP8	1,763	2,267	2,015	0,356	ERSTEP8	1,875	1,875	1,875	0,000	-0,140
ERSTEP9	3,158	2,745	2,952	0,292	ERSTEP9	4,255	3,712	3,984	0,384	1,032
ERSTEP10	3,140	3,305	3,223	0,117	ERSTEP10	3,301	3,279	3,290	0,016	0,067
ERSTEP11	4,114	3,986	4,050	0,091	ERSTEP11	3,342	3,732	3,537	0,276	-0,513
ERSTEP12	2,730	2,760	2,745	0,022	ERSTEP12	3,041	2,301	2,671	0,524	-0,074
ERSTEP13	3,167	2,863	3,015	0,215	ERSTEP13	2,949	3,041	2,995	0,065	-0,020
ERSTEP14	2,267	1,763	2,015	0,356	ERSTEP14	1,954	2,477	2,216	0,370	0,200
ERSTEP15	3,609	3,609	3,609	0,000	ERSTEP15	2,799	3,857	3,328	0,748	-0,280
ERSTEP16	3,788	3,551	3,670	0,167	ERSTEP16	3,000	3,973	3,487	0,688	-0,183
ERSTEP17	3,431	3,346	3,389	0,060	ERSTEP17	3,255	3,875	3,565	0,438	0,176
ERSTEP18	2,393	2,699	2,546	0,217	ERSTEP18	2,716	2,708	2,712	0,006	0,166
ERSTEP19	2,255	2,076	2,165	0,127	ERSTEP19	2,633	2,863	2,748	0,163	0,583
ERSTEP20	4,299	4,408	4,354	0,077	ERSTEP20	3,892	2,875	3,384	0,719	-0,970
ERSTEP21	4,713	4,774	4,744	0,043	ERSTEP21	4,602	4,531	4,567	0,050	-0,177

q= 41
n= 2
N=qn= 82

Mx= 3,877
MEDx= 3,609
SDBx= 1,227
MEDwx = 0,066
SDwx= 0,133
rob. SDwx= 0,099

My= 3,834
MEDy= 3,581
SDby= 1,134
MEDwy = 0,236
SDwy= 0,408
rob. SDwy= 0,350

M= -0,043
MED= -0,140
Biais

Choix de la méthode

OLS1; x=réf

R= 3,082
rob. R= 3,553

Sx= 1,223
Sy= 1,163

r= 0,925
b= 0,951
a= 0,146

Res. SD= 0,535

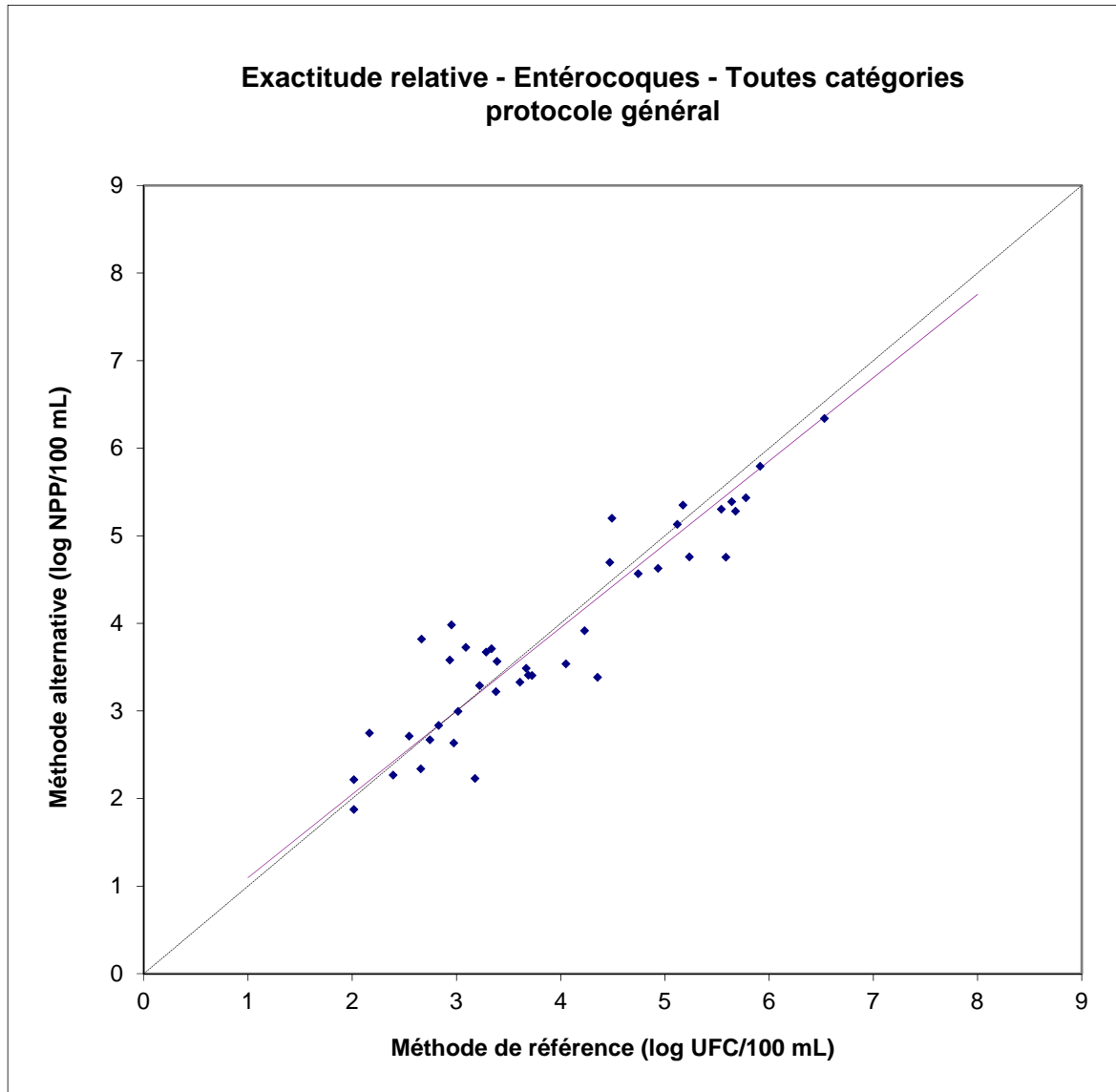
S(b)= 0,254 p(t;b=1)= 0,849 t(b)= 0,191
S(a)= 1,031 p(t;a=0)= 0,888 t(a)= 0,141

Répétabilité	Méthode de référence	Méthode alternative
r	0,371	1,144
rob. r	0,276	0,980

1,000 1,097
8,000 7,756

M. réf	Alt	Est.Y	Déviation
3,725	3,079	3,689	-0,610
5,541	5,146	5,417	-0,271
5,586	4,568	5,459	-0,891
5,678	5,415	5,547	-0,132
4,492	5,146	4,419	0,727
5,641	5,602	5,512	0,090
5,778	5,505	5,642	-0,137
5,914	5,763	5,772	-0,009
6,531	6,505	6,359	0,146
5,235	5,176	5,126	0,050
5,119	5,114	5,016	0,098
4,935	4,079	4,841	-0,762
5,174	5,380	5,067	0,313
3,285	3,839	3,270	0,569
2,830	2,591	2,838	-0,247
3,090	3,763	3,085	0,678
2,666	3,857	2,681	1,176
3,178	2,806	3,169	-0,363
3,337	4,623	3,320	1,303
2,937	3,342	2,939	0,403
2,974	2,677	2,975	-0,298
2,657	2,520	2,673	-0,154
2,393	2,134	2,422	-0,289
3,690	3,462	3,656	-0,193
3,379	3,037	3,360	-0,323
4,229	3,907	4,169	-0,262
4,471	4,427	4,399	0,027
2,015	1,875	2,063	-0,188
2,952	4,255	2,954	1,301
3,223	3,301	3,211	0,090
4,050	3,342	3,999	-0,656
2,745	3,041	2,757	0,284
3,015	2,949	3,014	-0,065
2,015	1,954	2,063	-0,109
3,609	2,799	3,579	-0,779
3,670	3,000	3,637	-0,637
3,389	3,255	3,370	-0,114
2,546	2,716	2,568	0,148
2,165	2,633	2,206	0,428
4,354	3,892	4,287	-0,395
4,744	4,602	4,659	-0,056

Les points représentés correspondent aux moyennes des répétitions de chaque échantillon



3,725	3,732	3,689	0,043
5,541	5,462	5,417	0,045
5,586	4,944	5,459	-0,515
5,678	5,146	5,547	-0,401
4,492	5,255	4,419	0,836
5,641	5,176	5,512	-0,336
5,778	5,362	5,642	-0,280
5,914	5,826	5,772	0,054
6,531	6,176	6,359	-0,183
5,235	4,342	5,126	-0,784
5,119	5,146	5,016	0,130
4,935	5,176	4,841	0,335
5,174	5,322	5,067	0,255
3,285	3,505	3,270	0,235
2,830	3,079	2,838	0,241
3,090	3,690	3,085	0,605
2,666	3,785	2,681	1,104
3,178	1,653	3,169	-1,516
3,337	2,799	3,320	-0,521
2,937	3,820	2,939	0,881
2,974	2,591	2,975	-0,384
2,657	2,158	2,673	-0,515
2,393	2,401	2,422	-0,021
3,690	3,354	3,656	-0,302
3,379	3,403	3,360	0,043
4,229	3,927	4,169	-0,242
4,471	4,966	4,399	0,566
2,015	1,875	2,063	-0,188
2,952	3,712	2,954	0,758
3,223	3,279	3,211	0,067
4,050	3,732	3,999	-0,266
2,745	2,301	2,757	-0,456
3,015	3,041	3,014	0,027
2,015	2,477	2,063	0,414
3,609	3,857	3,579	0,279
3,670	3,973	3,637	0,336
3,389	3,875	3,370	0,505
2,546	2,708	2,568	0,140
2,165	2,863	2,206	0,658
4,354	2,875	4,287	-1,412
4,744	4,531	4,659	-0,127

ANNEXE 5

LINEARITE

ÉVALUATION DE LA LINEARITE (ECHANTILLONS DOPES A 3 NIVEAUX DE CONCENTRATION)

✓ Eau douce superficielle

Niveaux (j)	Répétition (k)	Résultats bruts / 100 ml		Résultats en LOG		Exactitude relative	
		NF EN 7899-1	XplOrer64™	NF EN 7899-1 (x)	XplOrer64™ (y)	Différence (d)	Moyenne des différences
Environ 5.10 ¹ ufc / 100 ml	répétition 1	3,0E+01	5,0E+01	1,48	1,70	0,22	0,11
	répétition 2	4,5E+01	4,4E+01	1,65	1,64	-0,01	
Environ 5.10 ² ufc / 100 ml	répétition 1	6,5E+02	5,3E+02	2,82	2,73	-0,09	-0,19
	répétition 2	7,2E+02	3,7E+02	2,86	2,57	-0,29	
Environ 5.10 ³ ufc / 100 ml	répétition 1	5,7E+03	5,9E+03	3,76	3,77	0,01	0,08
	répétition 2	5,0E+03	7,1E+03	3,70	3,85	0,15	

$$\text{avec } d_{jk} = y_{jk} - x_{jk}$$

Caractéristiques physico-chimiques de l'eau douce superficielle utilisée (base canoë-kayak du canal de la Deûle, Lille) :

- conductivité : 1030 µS/cm
- turbidité : 1,4 NFU
- MEST : 1,6 mg/l

✓ Eau de mer

Niveaux (j)	Répétition (k)	Résultats bruts / 100 ml		Résultats en LOG		Exactitude relative	
		NF EN 7899-1	XplOrer64™	NF EN 7899-1 (x)	XplOrer64™ (y)	Différence (d)	Moyenne des différences
Environ 5.10 ¹ ufc / 100 ml	répétition 1	4,6E+01	3,2E+01	1,66	1,51	-0,16	-0,16
	répétition 2	4,6E+01	<1	1,66			
Environ 5.10 ² ufc / 100 ml	répétition 1	6,6E+02	1,3E+03	2,82	3,10	0,28	0,28
	répétition 2	3,9E+02	7,6E+02	2,59	2,88	0,29	
Environ 5.10 ³ ufc / 100 ml	répétition 1	5,0E+03	3,9E+03	3,70	3,59	-0,11	-0,21
	répétition 2	6,6E+03	3,3E+03	3,82	3,52	-0,30	

$$\text{avec } d_{jk} = y_{jk} - x_{jk}$$

Caractéristiques physico-chimiques de l'eau de mer utilisée (littoral, Gravelines) :

- conductivité : 49000 µS/cm
- turbidité : 0,92 NFU
- MEST : 13,2 mg/l

Remarque :

Le nombre de données proposées est conforme au référentiel en vigueur mais cependant insuffisant pour exploiter les résultats par exemple selon NF EN ISO 16140 « Protocole pour la validation des méthodes alternatives en microbiologie des aliments » (5 niveaux et 2 répétitions par niveau requis au minimum) ou encore selon XP T 90-210 « Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence » (5 niveaux et 5 répétitions par niveau requis au minimum). C'est pourquoi aucune exploitation statistique n'est proposée pour cette partie, le but de ces essais sur échantillons dopés étant avant tout d'avoir une aperçu descriptif de la relation entre les 2 méthodes.

Résultats détaillés

Domaine d'application : eaux résiduaires

Version logiciel Xplorer64™ Manager : V3.0
 Souche utilisée : *Enterococcus faecalis* (Eau de STEP, Solesmes 2011, A1)
 Matrice utilisée : Effluent de station (Douvrin, MES : 4 mg/L)

Protocole général pour des échantillons filtrables (filtration de 100 ml), protocole validé en 2009 sur eaux de baignade

Taux visé (UFC/100 mL)	Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1							
		Résultat NPP			Enterococci / 100 mL				
		R1	R2	R1	R2	R1	R2		
2.00E+02	2.25E+02	2/1/0/0/0/0	3/0/0/0/0/0	1.80E+02	1.85E+02	6.67	9.96E+04	6.43	1.46E+05
2.00E+04	1.89E+04	16/14/5/1/0/0	16/14/4/0/0/0	2.56E+04	2.20E+04	5.02	1.41E+06	4.88	1.76E+06
2.00E+06	1.95E+06	16/16/16/15/2/1	16/16/16/16/9/1	2.46E+06	8.12E+06	3.07	3.21E+07	2.67	6.10E+07

Protocole spécifique 1 pour des échantillons filtrables (filtration de 10 mL)

Taux visé (UFC/100 mL)	Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1							
		Résultat NPP			Enterococci / 100 mL				
		R1	R2	R1	R2	R1	R2		
2.00E+02	2.25E+02	2/1/0/0/0/0	3/0/0/0/0/0	1.80E+02	1.85E+02	8.19	8.70E+03	8.50	5.29E+03
2.00E+04	1.89E+04	16/14/5/1/0/0	16/14/4/0/0/0	2.56E+04	2.20E+04	5.98	3.01E+05	5.59	5.63E+05
2.00E+06	1.95E+06	16/16/16/15/2/1	16/16/16/16/9/1	2.46E+06	8.12E+06	3.95	7.82E+06	3.52	1.56E+07

Protocole spécifique 2 pour des échantillons non filtrables (ensemencement direct de 1 mL)

Taux visé (UFC/100 mL)	Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1							
		Résultat NPP			Enterococci / 100 mL				
		R1	R2	R1	R2	R1	R2		
2.00E+02	2.25E+02	2/1/0/0/0/0	3/0/0/0/0/0	1.80E+02	1.85E+02	8.62	4.36E+03	9.27	1.54E+03
2.00E+04	1.89E+04	16/14/5/1/0/0	16/14/4/0/0/0	2.56E+04	2.20E+04	6.49	1.33E+05	6.58	1.15E+05
2.00E+06	1.95E+06	16/16/16/15/2/1	16/16/16/16/9/1	2.46E+06	8.12E+06	4.28	4.61E+06	4.31	4.39E+06
2.00E+08	1.91E+08	16/16/16/16/16/16	16/16/16/16/16/15	3.50E+08	3.46E+08	4.46	3.45E+06	1.98	1.84E+08

MES : taux de matières en suspension

DT : temp de détection

b : bactéries

R1, R2 : réplicats

**Synthèse des résultats [log(bactéries/100 mL)]
selon le logiciel Xplorer64 Manager V3.0**

Domaine d'application : eaux usées

Protocole général (Filtration 100 mL)

Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1		Xplorer64 CheckN' Safe Enterococcus	
	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)
2.35	2.26	2.27	5.00	5.16
4.28	4.41	4.34	6.15	6.25
6.29	6.39	6.91	7.51	7.79

Protocole spécifique 1 (Filtration 10 mL)

Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1		Xplorer64 CheckN' Safe Enterococcus	
	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)
2.35	2.26	2.27	3.94	3.72
4.28	4.41	4.34	5.48	5.75
6.29	6.39	6.91	6.89	7.19

Protocole spécifique 2 (ensemencement direct de 1 mL)

Taux réel (UFC/100 mL)	NF EN ISO 7899-1		Xplorer64 CheckN' Safe Enterococcus	
	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)	R1 (b / 100 mL)	R2 (b / 100 mL)
2.35	2.26	2.27	3.64	3.19
4.28	4.41	4.34	5.12	5.06
6.29	6.39	6.91	6.66	6.64
8.28	8.54	8.54	6.54	8.26

b : bactéries
R1, R2 : réplicats

Linéarité - Entérocoques - Eau douce - Données en log

Niveau
1
2
3

Méthode de référence			
Rep.1	Rep.2	M	SD
1,477	1,653	1,6	0,125
2,813	2,857	2,8	0,031
3,756	3,699	3,7	0,040

Méthode alternative			
Rep.1	Rep.2	M	SD
1,699	1,643	1,7	0,039
2,724	2,568	2,6	0,110
3,771	3,851	3,8	0,057

q = 3
n = 2
N = qn = 6

Mx = 2,709
MEDx = 2,835
SDbx = 1,087

My = 2,710
MEDy = 2,646
SDby = 1,071

MEDwx = 0,040
SDwx = 0,055
rob. SDwx = 0,060

MEDwy = 0,057
SDwy = 0,053
rob. SDwy = 0,084

Choix méthode

GMFR

R = 0,968
rob.R = 1,413
Res.SEM = 0,230
Res.SD = 0,325

Sx = 0,974
Sy = 0,960

Est y	Déviation
1,582	0,090
2,834	-0,187
3,713	0,098

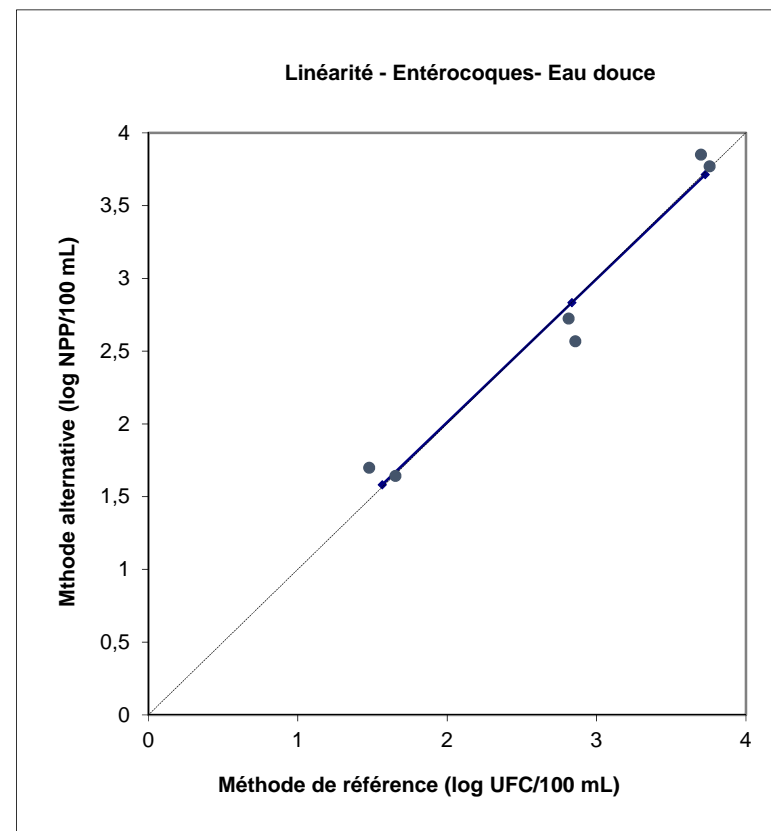
r = 0,989
b = 0,986
a = 0,039

Sb = 0,167 p(t;b=1) = 0,936 t (b) = 0,085
Sa = 0,471 p(t;a=0) = 0,939 t (a) = 2,043

Linéarité

F = 146,193 p(F) = 0,001
rob.F = 56,327 rob.p(F) = 0,005

146,19291



Niveau
1
2
3
4
5

Méthode de référence			
Rep.1	Rep.2	M	SD
1,477	1,653	1,6	0,125
2,813	2,857	2,8	0,031
3,756	3,699	3,7	0,040
2,820	2,591	2,7	0,162
3,699	3,820	3,8	0,085

Méthode alternative			
Rep.1	Rep.2	M	SD
1,699	1,643	1,7	0,039
2,724	2,568	2,6	0,110
3,771	3,851	3,8	0,057
3,114	2,881	3,0	0,165
3,591	3,519	3,6	0,051

q = 5
n = 2
N = qn = 10

Mx = 2,918
MEDx = 2,835
SDbx = 0,901

My = 2,936
MEDy = 2,997
SDby = 0,842

MEDwx = 0,085
SDwx = 0,072
rob. SDwx = 0,126

MEDwy = 0,057
SDwy = 0,068
rob. SDwy = 0,084

Choix méthode GMFR

R = 0,953
rob.R = 0,667
Res.SEM = 0,140
Res.SD = 0,198

Sx = 0,853
Sy = 0,797

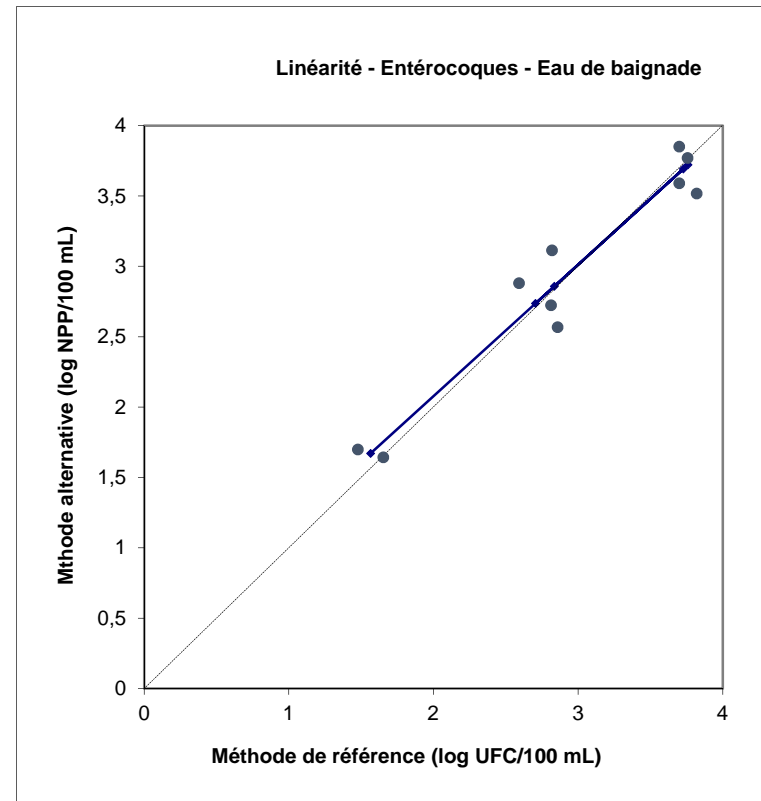
r = 0,973
b = 0,935
a = 0,207

Est y	Déviation
1,671	0,000
2,858	-0,212
3,693	0,119
2,737	0,261
3,722	-0,167

Sb = 0,082 p(t;b=1) = 0,452 t (b) = 0,791
Sa = 0,248 p(t;a=0) = 0,427 t (a) = 3,195

Linéarité

F = 20,761 p(F) = 0,003
rob.F = 13,092 rob.p(F) = 0,008



Linéarité - Entérocoques - Eau de rejet et résiduaires 100 mL - Données en log

Niveau
1
2
3

Méthode de référence			
Rep.1	Rep.2	M	SD
2,255	2,267	2,3	0,008
4,408	4,342	4,4	0,047
6,391	6,910	6,7	0,367

Méthode alternative			
Rep.1	Rep.2	M	SD
4,998	5,164	5,1	0,117
6,149	6,246	6,2	0,068
7,507	7,785	7,6	0,197

q = 3
n = 2
N = qn = 6

Mx = 4,429
MEDx = 4,375
SDbx = 2,195

My = 6,308
MEDy = 6,197
SDby = 1,286

MEDwx = 0,047
SDwx = 0,151
rob. SDwx = 0,069

MEDwy = 0,117
SDwy = 0,098
rob. SDwy = 0,174

Choix méthode

OLS1; x=réf

R = 0,647
rob.R = 2,524

Res.SD = 0,138

Sx = 1,970
Sy = 1,155

M. (réf)	Alt.	Est. Y	Déviation
2,261	4,998	5,037	-0,039
4,375	6,149	6,277	-0,128
6,650	7,507	7,611	-0,104
2,261	5,164	5,037	0,127
4,375	6,246	6,277	-0,031
6,650	7,785	7,611	0,175

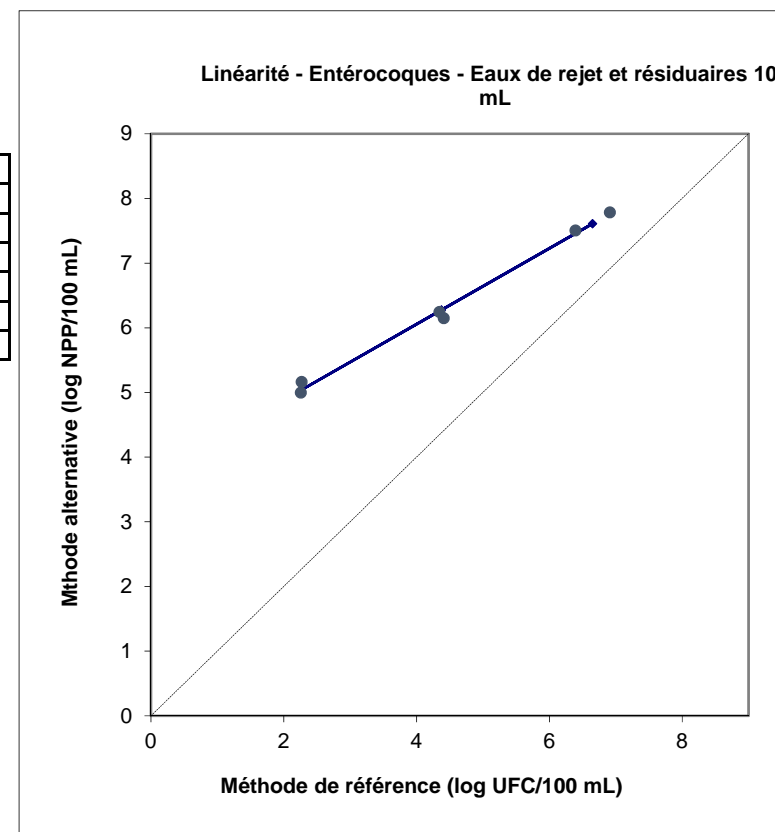
r = 0,999
b = 0,586
a = 3,712

Sb = 6,380 p(t;b=1) = 0,951 t (b) = 0,065
Sa = 0,150 p(t;a=0) = 0,000 t (a) = 18,096

Linéarité

F = 4,988 p(F) = 0,112
rob.F = 0,484 rob.p(F) = 0,537

4,98836565



Linéarité - Entérocoques - Eau de rejet et résiduares 10 mL - Données en log

Niveau
1
2
3

Méthode de référence			
Rep.1	Rep.2	M	SD
2,255	2,267	2,3	0,008
4,408	4,342	4,4	0,047
6,391	6,910	6,7	0,367

Méthode alternative			
Rep.1	Rep.2	M	SD
3,940	3,723	3,8	0,153
5,479	5,751	5,6	0,192
6,893	7,193	7,0	0,212

q = 3
n = 2
N = qn = 6

Mx = 4,429
MEDx = 4,375
SDbx = 2,195

My = 5,496
MEDy = 5,615
SDby = 1,609

MEDwx = 0,047
SDwx = 0,151
rob. SDwx = 0,069

MEDwy = 0,192
SDwy = 0,132
rob. SDwy = 0,285

Choix méthode

OLS1; x=réf

R = 0,878
rob.R = 4,132

Res.SD = 0,212

Sx = 1,970
Sy = 1,447

M. (réf)	Alt.	Est. Y	Déviation
2,261	3,940	3,905	0,035
4,375	5,479	5,457	0,022
6,650	6,893	7,127	-0,234
2,261	3,723	3,905	-0,181
4,375	5,751	5,457	0,293
6,650	7,193	7,127	0,066

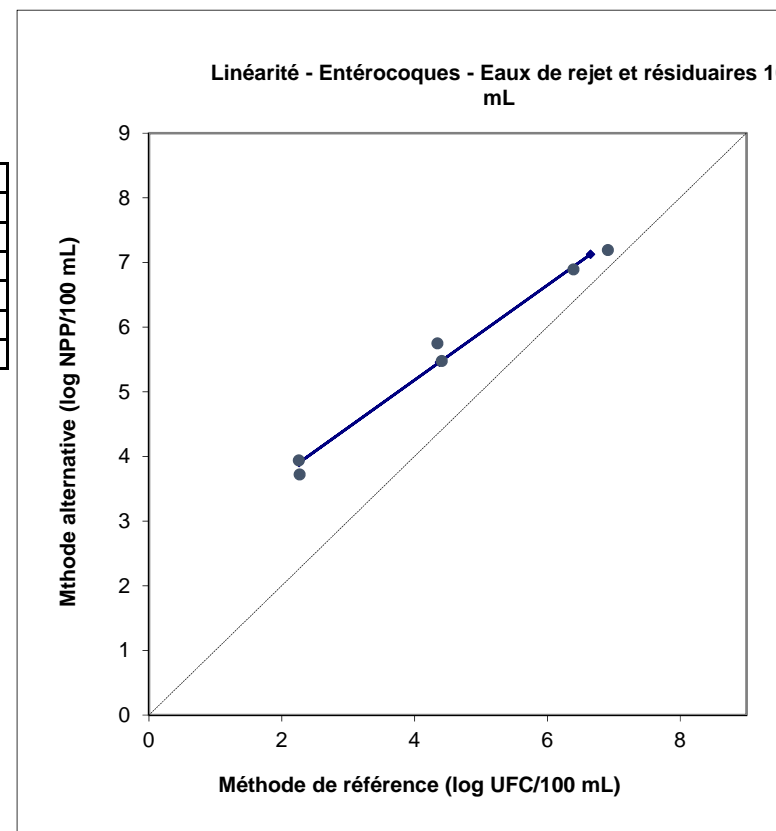
r = 0,996
b = 0,734
a = 2,245

Sb = 4,156 p(t;b=1) = 0,952 t (b) = 0,064
Sa = 0,230 p(t;a=0) = 0,001 t (a) = 5,410

Linéarité

F = 7,247 p(F) = 0,074
rob.F = 0,788 rob.p(F) = 0,440

7,24687148



Niveau
1
2
3
4

q = 4
 n = 2
 N = qn = 8

Méthode de référence			
Rep.1	Rep.2	M	SD
2,255	2,267	2,3	0,008
4,408	4,342	4,4	0,047
6,391	6,910	6,7	0,367
8,544	8,539	8,5	0,004

Mx = 5,457
 MEDx = 5,513
 SDbx = 2,728

MEDwx = 0,027
 SDwx = 0,131
 rob. SDwx = 0,041

Méthode alternative			
Rep.1	Rep.2	M	SD
3,639	3,188	3,4	0,320
5,124	5,061	5,1	0,045
6,664	6,642	6,7	0,015
6,538	8,265	7,4	1,221

My = 5,640
 MEDy = 5,873
 SDby = 1,769

MEDwy = 0,182
 SDwy = 0,447
 rob. SDwy = 0,270

Choix méthode OLS1

R = 3,416
 rob.R = 6,628
 Res.SD = 0,572

Sx = 2,529
 Sy = 1,706

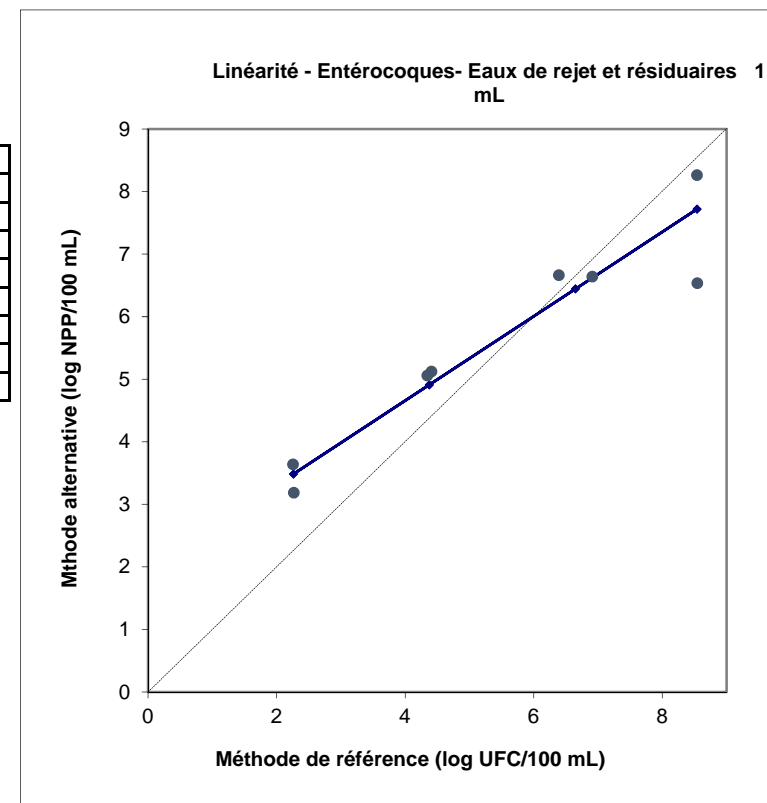
r = 0,991
 b = 0,674
 a = 1,960

M. (réf)	Alt.	Est. Y	Déviation
2,261	3,639	3,485	0,155
4,375	5,124	4,910	0,213
6,650	6,664	6,445	0,219
8,542	6,538	7,720	-1,182
2,261	3,188	3,485	-0,297
4,375	5,061	4,910	0,150
6,650	6,642	6,445	0,198
8,542	8,265	7,720	0,545

Sb = 1,672 p(t;b=1) = 0,852 t (b) = 0,195
 Sa = 0,508 p(t;a=0) = 0,008 t (a) = 1,888

Linéarité

F = 2,919 p(F) = 0,165
 rob.F = 11,456 rob.p(F) = 0,022



ANNEXE 6

DETERMINATION DES LIMITES DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION

RESULTATS OBTENUS POUR LA DETERMINATION DES LIMITES DE DETECTION (LOD) ET DE QUANTIFICATION (LOQ)

Domaine d'application : Eaux usées

Souche utilisée : *E. faecalis* (Effluent de station, Solesme)

Matrice utilisée : Effluent de station (Douvrin, MES : 4 mg/L)

↳ Résultats de la méthode alternative XplOrer64™ CheckN' Safe *E. coli* en Germes dans 100 mL

Protocole général : filtration de 100 mL

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats								
		1			2			3		
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection
0,5	0,4 - 0,7	11,49	44	+	/	<seuil	-	/	<seuil	-
1,1	0,9 - 1,3	12,47	9	+	10,07	426	+	10,00	477	+
2,1	1,7 - 2,6	11,54	40	+	9,50	1063	+	9,80	657	+

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats									
		4			5			6			Taux
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	
0,5	0,4 - 0,7	9,27	1537	+	/	<seuil	-	9,73	735	+	
1,1	0,9 - 1,3	11,60	37	+	10,36	268	+	11,62	35	+	6/6
2,1	1,7 - 2,6	9,17	1805	+	13,36	2	+	9,73	735	+	6/6

DT : Temps de détection / : non détecté

- : négatif + : positif

* IC : Indice de confiance (loi de Poisson)

Protocole spécifique 1 : filtration de 10 mL

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats								
		1			2			3		
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection
1,0	0,9 - 1,3	10,59	180	+	9,63	870	+	/	<seuil	-
2,1	1,7 - 2,5	/	<seuil	-	10,21	340	+	11,55	39	+
5,2	4,3 - 6,3	10,03	450	+	9,98	490	+	12,88	4,7	+
10,4	8,5 - 12,7	9,61	890	+	11,11	80	+	9,47	1100	+

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats									
		4			5			6			Taux
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	
1,0	0,9 - 1,3	10,03	460	+	/	<seuil	-	/	<seuil	-	
2,1	1,7 - 2,5	12,74	5,9	+	12,18	15	+	/	<seuil	-	4/6
5,2	4,3 - 6,3	/	<seuil	-	10,38	260	+	9,72	750	+	5/6
10,4	8,5 - 12,7	10,51	210	+	10,46	230	+	10,87	112	+	6/6

DT : Temps de détection / : non détecté

- : négatif + : positif

* IC : Indice de confiance (loi de Poisson)

**RESULTATS OBTENUS POUR LA DETERMINATION
DES LIMITES DE DETECTION (LOD) ET DE QUANTIFICATION (LOQ)**

Domaine d'application : Eaux usées

Souche utilisée : *E. faecalis* (Effluent de station, Solesme)

Matrice utilisée : Effluent de station (Douvrin, MES : 4 mg/L)

↗ Résultats de la méthode alternative XpLOrer64™ CheckN' Safe *E. coli* en Germes dans 100 mL

Protocole spécifique : ensemencement direct de 1 mL

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats								
		1			2			3		
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection
0,5	0,4 – 0,6	/	<seuil	-	/	<seuil	-	/	<seuil	-
0,7	0,6 – 0,8	13,45	1,9	+	9,79	670	+	/	<seuil	-
1,4	1,2 – 1,6	10,76	140	+	9,17	1800	+	9,65	830	+
2,9	2,5 – 3,3	9,51	1100	+	9,60	910	+	9,17	1800	+

Niveau d'inoculation (Germes/100mL)	IC* (Germes/100mL)	Réplicats									Taux
		4			5			6			
		DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	DT	Réponse dans 100 mL	Détection	
0,5	0,4 – 0,6	/	<seuil	-	/	<seuil	-	/	<seuil	-	0/6
0,7	0,6 – 0,8	10,11	400	+	/	<seuil	-	/	<seuil	-	3/6
1,4	1,2 – 1,6	9,64	850	+	9,25	1600	+	9,73	740	+	6/6
2,9	2,5 – 3,3	9,37	1300	+	9,28	1500	+	9,58	930	+	6/6

DT : Temps de détection / : non détecté

- : négatif

+ : positif

* IC : Indice de confiance (loi de Poisson)

ANNEXE 7

SELECTIVITE (Inclusivité/Exclusivité)

Rappel des résultats de l'étude initiale selon Xplorer64 Software Version 3.0

Inclusivité (2009) V3.0
Souches cibles : Enterococci

Référence	Souche	Origine	Taux cible inoculum sur PCA (UFC/100 mL)	Méthode alternative Xplorer 64™ CheckN'Safe Enterococci		
				DT (heures)	Résultat (b/100 mL)	Résultat final détection entérocoques
1	<i>Enterococcus avium</i>	Eau de puits - Lille (59)	2.5E+01	/	ND	-
2	<i>Enterococcus durans</i>	Eau de puits - Lille (59)	2.4E+01	12.50	8.6E+00	+
3	<i>Enterococcus durans</i>	Eau de surface - Etang du Parc Barbieux, Croix (59)	8.1E+01	9.70	7.7E+02	+
4	<i>Enterococcus durans</i>	Eau de mer - Plage sud, Oyes-Plage (62)	7.7E+01	8.73	3.7E+03	+
5	<i>Enterococcus durans</i>	Eau de mer - Plage de Wissant (62)	4.8E+01	8.72	3.7E+03	+
6	<i>Enterococcus durans</i>	Eau de mer - Plage du Chatelet, Tardinghen (62)	5.9E+01	9.00	2.4E+03	+
7	<i>Enterococcus faecalis</i>	Collection CCM 2541	2.6E+01	10.09	4.1E+02	+
8	<i>Enterococcus faecalis</i>	Eau de mer - Plage Sud, Audresselles (62)	7.7E+01	/	ND	-
9	<i>Enterococcus faecalis</i>	Eau de mer - Plage des Dunes de la Slack, Ambleteuse (62)	1.1E+02	10.07	4.3E+02	+
10	<i>Enterococcus faecium</i>	Collection RIVM WR63	1.7E+01	10.02	4.6E+02	+
11	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Port de plaisance, Fort-Philippe (59)	4.6E+01	11.83	2.5E+01	+
12	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Etang du Parc d'Immercourt, Athies (62)	5.9E+01	11.76	2.8E+01	+
13	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Rivière, Roeux (62)	4.5E+01	11.03	9.1E+01	+
14	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Lac de Wazlers (59)	2.1E+01	10.26	3.1E+02	+
15	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Rivière, Lambres les Douai (59)	3.5E+01	12.33	1.1E+01	+
16	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Lac de Brunemont (59)	8.1E+01	11.50	4.3E+01	+
17	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de surface - Canal de la Sensée, Arleux (59)	4.2E+01	10.26	3.1E+02	+
18	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau saumâtre - Estuaire de l'Aa, Gravelines (59)	5.2E+01	12.99	3.9E+00	+
19	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau saumâtre - Canal de Bourbourg, Dunkerque (59)	5.2E+01	9.01	2.3E+03	+
20	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de mer - Plage Centrale, Dunkerque (59)	3.6E+01	9.69	7.8E+02	+
21	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de mer - Plage Centrale, Gravelines (59)	6.4E+01	8.28	7.5E+03	+
22	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de mer - Plage de Fort-Vert, Hommes de Marck (62)	3.2E+01	10.32	2.9E+02	+
23	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de mer - Plage Centrale, Sangatte (62)	6.3E+01	9.25	1.6E+03	+
24	<i>Enterococcus faecium</i>	Eau de mer - Plage du Cap Gris-Nez (62)	4.6E+01	9.76	7.0E+02	+
25	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau de surface - Douves, Gravelines (59)	5.3E+01	11.28	6.1E+01	+
26	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau de surface - Lac du héron, Villeneuve d'Ascq (59)	5.0E+01	11.37	5.3E+01	+
27	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau de surface - Rivière, Armentières (59)	3.3E+01	11.61	3.6E+01	+
28	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau de surface - Etang Loisirparc, Aubigny-au-Bac (59)	4.8E+01	11.09	8.3E+01	+
29	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Eau de mer - Plage du Cap Blanc-Nez (62)	2.0E+01	13.57	1.6E+00	+
30	<i>Enterococcus hirae</i>	Collection CCM 2423	1.2E+02	11.83	2.5E+01	+

b/100 mL : bactéries dans 100 mL

- : test négatif

+ : test positif

ND : Non détecté

Résultats de l'étude préliminaire initiale selon Xplorer64 Software Version 3.0

Exclusivité (2009) V3.0
Souches non cibles

Référence	Souche	Origine	Taux cible inoculum sur PCA (UFC/100 mL)	Méthode alternative Xplorer 64™ CheckN' Safe Enterococci			NF EN ISO 9308-3 (UFC/100 ml)
				DT (heures)	Résultat (b/100 mL)	Résultat final détection entérocoques	
1	<i>Aerococcus viridans</i>	collection CIP 54.145T	4.4E+03	/	ND	-	/
2	<i>Aerococcus viridans</i>	Eau de réseau	3.4E+04	/	ND	-	/
3	<i>Lactococcus cremoris</i>	Eau de réseau	2.6E+04	/	ND	-	/
4	<i>Lactococcus lactis lactis</i>	collection CIP 70.56T	6.0E+04	/	ND	-	/
5	<i>Micrococcus luteus</i>	collection CIP 53.45	8.0E+04	/	ND	-	/
6	<i>Micrococcus (Kocuria) varians</i>	collection CIP 81.73T	8.0E+04	/	ND	-	/
7	<i>Pediococcus damnosus</i>	collection CIP 102264T	1.8E+04	/	ND	-	/
8	<i>Pediococcus (Tetragenococcus) halophilus</i>	collection CIP 102263T	2.0E+04	/	ND	-	/
9	<i>Pediococcus inopinatus</i>	collection CIP 102406T	5.4E+04	/	ND	-	/
10	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	collection CIP 10260T	8.0E+04	/	ND	-	/
11	<i>Planococcus citreus</i>	collection CIP 81.74T	1.5E+05	/	ND	-	/
12	<i>Staphylococcus aureus</i>	collection CIP 53.154	1.2E+04	/	ND	-	/
13	<i>Staphylococcus capitis</i>	Eau de piscine	3.4E+03	/	ND	-	/
14	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	Eau de piscine	2.5E+04	/	ND	-	/
15	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	collection CIP 68.21	2.4E+05	/	ND	-	/
16	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Eau de réseau	1.9E+04	/	ND	-	/
17	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Eau de thermes	2.5E+04	/	ND	-	/
18	<i>Staphylococcus xylosum</i>	Eau de réseau	2.3E+04	/	ND	-	/
19	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	collection CIP 64.6T	3.1E+04	/	ND	-	/
20	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Eau de forage	2.5E+05	/	ND	-	/
21	<i>Bacillus cereus</i>	collection CIP 64.52	3.0E+05	/	ND	-	/
22	<i>Bacillus subtilis</i>	collection CIP 52.62	2.5E+05	/	ND	-	/
23	<i>Corynebacterium propinquum</i>	Eau de réseau	1.9E+03	/	ND	-	/
24	<i>Enterobacter cloacae</i>	Eau de piscine	1.2E+04	/	ND	-	/
25	<i>Proteus mirabilis</i>	Eau de rivière	8.8E+03	/	ND	-	/
26	<i>Proteus vulgaris</i>	Eau de rivière	6.8E+03	/	ND	-	/
27	<i>Providencia stuartii</i>	Eau de rivière	6.5E+03	/	ND	-	<15
			2.3E+03	/	ND	-	<16
28	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eau de thermes	4.6E+03	/	ND	-	/
29	<i>Vibrio fluvialis</i>	Eau de rivière	9.0E+03	/	ND	-	/
30	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Eau de réseau	9.6E+04	/	ND	-	/

b/100 mL : bactéries dans 100 mL

- : test négatif

+ : test positif

ND : Non détecté

ANNEXE 8

RESULTATS EN ENTEROCOQUES OBSERVES PAR LES PARTICIPANTS

Niveau bas (flacons A et B)

LE : laboratoire expert (seul les échantillons du colis 2 ont été analysés par méthode alternative)

	Résultats bruts en entérocoques / 100 ml								Résultats LOG								Moyennes	
	NF EN ISO 7899-1				XplOrer64 ⁽¹⁾				NF EN ISO 7899-1				XplOrer64					
	A1	A2	B1	B2	A1	A2	B1	B2	A1	A2	B1	B2	A1	A2	B1	B2		
1	61	30	61	30	54	67	23	21	1,79	1,48	1,79	1,48	1,73	1,83	1,36	1,32	1,63	1,56
2	109	61	61	46	91	115	99	89	2,04	1,79	1,79	1,66	1,96	2,06	2,00	1,95	1,82	1,99
3	46	30	46	61	83	33	72	149	1,66	1,48	1,66	1,79	1,92	1,52	1,86	2,17	1,65	1,87
4	93	30	94	<15	34	49	49	48	1,97	1,48	1,97	-	1,53	1,69	1,69	1,68	1,81	1,65
5	94	46	94	61	91	114	277	162	1,97	1,66	1,97	1,79	1,96	2,06	2,44	2,21	1,85	2,17
6	15	30	46	30	19	21	37	43	1,18	1,48	1,66	1,48	1,28	1,32	1,57	1,63	1,45	1,45
7	61	77	15	110	338	162	281	179	1,79	1,89	1,18	2,04	2,53	2,21	2,45	2,25	1,72	2,36
8	61	44	77	45	66	59	37	82	1,79	1,64	1,89	1,65	1,82	1,77	1,57	1,91	1,74	1,77
9	61	61	110	46	25	83	114	34	1,79	1,79	2,04	1,66	1,40	1,92	2,06	1,53	1,82	1,73
10	61	94	61	110	<40	<40	<40	<40	1,79	1,97	1,79	2,04	-	-	-	-	1,90	-
11	<15	15	30	15	76	59	65	119	-	1,18	1,48	1,18	1,88	1,77	1,81	2,08	1,28	1,89
12	<15	<15	<15	<15	164	273	200	174	-	-	-	-	2,21	2,44	2,30	2,24	-	2,30
LE	61	110	77	30	237	102	77	102	1,79	2,04	1,89	1,48	2,37	2,01	1,89	2,01	1,80	2,07

Niveau moyen (flacons C et D)

	Résultats bruts en entérocoques / 100 ml								Résultats LOG								Moyennes	
	NF EN ISO 7899-1				XplOrer64 ⁽¹⁾				NF EN ISO 7899-1				XplOrer64					
	C1	C2	D1	D2	C1	C2	D1	D2	C1	C2	D1	D2	C1	C2	D1	D2		
1	956	640	705	1 020	153	612	3 434	324	2,98	2,81	2,85	3,01	2,18	2,79	3,54	2,51	2,91	2,75
2	1 089	690	828	828	657	475	1 224	1 390	3,04	2,84	2,92	2,92	2,82	2,68	3,09	3,14	2,93	2,93
3	565	690	861	690	812	847	812	757	2,75	2,84	2,94	2,84	2,91	2,93	2,91	2,88	2,84	2,91
4	814	848	865	931	395	539	603	639	2,91	2,93	2,94	2,97	2,60	2,73	2,78	2,81	2,94	2,73
5	872	585	767	514	896	621	1 062	1 062	2,92	2,94	2,77	2,88	2,71	2,95	2,79	3,03	2,83	2,95
6	565	559	750	697	705	418	1 313	400	2,75	2,75	2,88	2,84	2,85	2,62	3,12	2,60	2,80	2,80
7	683	585	838	647	2 663	1 351	1 870	2 279	2,83	2,77	2,92	2,81	3,43	3,13	3,27	3,36	2,83	3,30
8	1 007	872	791	828	1 295	735	319	1 224	3,00	2,94	2,90	2,92	3,11	2,87	2,50	3,09	2,94	2,89
9	896	734	824	791	1 767	1 259	603	835	2,95	2,87	2,92	2,90	3,25	3,10	2,78	2,92	2,91	3,01
10	742	759	524	683	578	<40	20 978	<40	2,87	2,88	2,72	2,83	2,76	-	4,32	-	2,83	3,54
11	690	110	61	61	746	812	871	847	2,84	2,04	1,79	1,79	2,87	2,91	2,94	2,93	2,11	2,91
12	<15	<15	<15	<15	373	1 897	517	2 588	-	-	-	-	2,57	3,28	2,71	3,41	-	2,99
LE	612	683	509	600	657	725	621	695	2,79	2,83	2,71	2,78	2,82	2,86	2,79	2,84	2,78	2,83

Niveau haut (flacons E et F)

	Résultats bruts en entérocoques / 100 ml								Résultats LOG								Moyennes	
	NF EN ISO 7899-1				XplOrer64 ⁽¹⁾				NF EN ISO 7899-1				XplOrer64					
	E1	E2	F1	F2	E1	E2	F1	F2	E1	E2	F1	F2	E1	E2	F1	F2		
1	7 101	6 581	5 712	7 683	1 033	1 295	2 094	2 625	3,85	3,82	3,76	3,89	3,01	3,11	3,32	3,42	3,83	3,22
2	6 119	6 119	9 043	6 119	3 533	3 583	2 940	10 346	3,79	3,79	3,96	3,79	3,55	3,55	3,47	4,01	3,83	3,65
3	4 267	6 581	9 826	4 005	4 822	4 960	4 960	4 246	3,63	3,82	3,99	3,60	3,68	3,70	3,70	3,63	3,76	3,68
4	4 753	4 573	6 119	6 581	2 035	2 858	1 897	3 434	3,68	3,66	3,79	3,82	3,31	3,46	3,28	3,54	3,74	3,39
5	8 329	5 712	4 753	6 581	4 822	5 795	4 557	6 964	3,92	3,76	3,68	3,82	3,68	3,76	3,66	3,84	3,79	3,74
6	5 712	4 502	4 368	5 352	2 940	2 588	pa	8 609	3,76	3,65	3,64	3,73	3,47	3,41	-	3,93	3,69	3,61
7	4 573	7 101	7 101	5 712	7 909	11 917	9 504	14 120	3,66	3,85	3,85	3,76	3,90	4,08	3,98	4,15	3,78	4,03
8	5 918	5 712	4 902	8 329	5 102	3 483	7 688	10 346	3,77	3,76	3,69	3,92	3,71	3,54	3,89	4,01	3,78	3,79
9	5 035	7 101	9 043	6 581	4 557	5 961	4 069	13 156	3,70	3,85	3,96	3,82	3,66	3,78	3,61	4,12	3,83	3,79
10	6 581	5 352	5 306	5 352	6 046	4 367	274 941	3 738	3,82	3,73	3,72	3,73	3,78	3,64	5,44	3,57	3,75	4,11
11	75	7 700	30	2 200	5 031	6 308	2 154	5 476	1,88	3,89	1,48	3,34	3,70	3,80	3,33	3,74	2,65	3,64
12	<15	<15	<15	<15	3 634	16 036	5 175	7 265	-	-	-	-	3,56	4,21	3,71	3,86	-	3,84
LE	5 712	5 352	4 368	5 035	4493	4687	5323	5476	3,76	3,73	3,64	3,70	3,65	3,67	3,73	3,74	3,71	3,70

(1) Résultats recalculés à l'aide de la nouvelle équation de calibration fournie par le fabricant

pa : problème analytique (labo n°6 échantillon F1 : membrane déchirée)

Participants écartés de l'exploitation statistique :

n°9 : problème de logiciel ayant entraîné le repositionnement de cellules dans l'automate XplOrer64 et recalcul des résultats

n°10 : résultats obtenus par méthode XplOrer64 aber rants

n°11 : résultats obtenus par méthode de référence a normaux (réplicats E et F)

n°12 : résultats obtenus par méthode de référence a normaux + analyse le 08/10

Temps de détection (DT) en h observés par les participants par la méthode Xplorer64

	Niveau bas (A et B)				Niveau moyen (C et D)				Niveau haut (E et F)			
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2	E1	E2	F1	F2
1	9,63	9,47	10,23	10,29	8,89	7,91	6,69	8,36	7,54	7,38	7,04	6,88
2	9,26	9,09	9,20	9,27	7,86	8,09	7,42	7,33	6,67	6,66	6,80	5,91
3	9,32	9,97	9,42	8,91	7,71	7,68	7,71	7,76	6,45	6,43	6,43	6,54
4	9,95	9,70	9,70	9,71	8,22	8,00	7,92	7,88	7,06	6,82	7,11	6,69
5	9,26	9,10	8,47	8,85	7,64	7,90	7,52	7,52	6,45	6,32	6,49	6,19
6	10,36	10,29	9,90	9,79	7,81	8,18	7,37	8,21	6,80	6,89	pa	6,04
7	8,33	8,85	8,46	8,78	6,87	7,35	7,12	6,98	6,10	5,81	5,97	5,69
8	9,48	9,56	9,89	9,33	7,38	7,78	8,37	7,42	6,41	6,68	6,12	5,91
9	10,16	9,32	9,10	9,95	7,16	7,40	7,92	7,69	6,49	6,30	6,57	5,74
10	-	-	-	-	7,95	-	5,41	-	6,29	6,52	3,59	6,63
11	9,39	9,57	9,50	9,07	7,77	7,71	7,66	7,68	6,42	6,26	7,02	6,36
12	8,84	8,48	8,70	8,80	8,26	7,11	8,03	6,89	6,65	5,60	6,40	6,16
LE	8,58	9,18	9,38	9,18	7,86	7,79	7,90	7,82	6,50	6,47	6,38	6,36