

**BIO-RAD**

3 boulevard Raymond Poincaré  
92430 MARNES LA COQUETTE

**NF VALIDATION**

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

**Rapport de synthèse**

**Validation EN ISO 16140 de la méthode  
iQ-Check™ *Escherichia coli* O157:H7  
pour les viandes crues de bœuf**

*Méthode qualitative*

Ce rapport comprend 47 pages dont 7 annexes.

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

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

Version 1

7 septembre 2012

***Annule et remplace la version précédente***

L'ancienne version doit être restituée  
à ADRIA Développement ou détruite en interne.








**ADRIA DEVELOPPEMENT**

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

E-mail : [adria.developpement@adria.tm.fr](mailto:adria.developpement@adria.tm.fr) - Site web : <http://www.adria.tm.fr>

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

## Sommaire

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION</b> _____	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>PROTOCOLES</b> _____	<b>4</b>
	<b>2.1 Protocole et principe de la méthode alternative</b> _____	<b>4</b>
	<b>2.2 Méthode de référence</b> _____	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>HISTORIQUE DE LA VALIDATION ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS</b> _____	<b>6</b>
	<b>3.1 Etude comparative des méthodes</b> _____	<b>6</b>
	3.1.1 <i>Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative</i> <i>(Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>6</b>
	3.1.2 <i>Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative</i> <i>(Etude d'extension – Septembre 2008)</i> _____	<b>10</b>
	3.1.3 <i>Niveau de détection relatif (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>13</b>
	3.1.4 <i>Niveau de détection relatif (Etude d'extension – Septembre 2008)</i> _____	<b>14</b>
	3.1.5 <i>Inclusivité et exclusivité (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>15</b>
	<b>3.2 Praticabilité</b> _____	<b>16</b>
	<b>3.3 Etude interlaboratoire (Validation initiale 2008)</b> _____	<b>18</b>
	3.3.1 <i>Organisation de l'étude</i> _____	<b>18</b>
	3.3.2 <i>Contrôle des paramètres expérimentaux</i> _____	<b>19</b>
	3.3.3 <i>Résultats des analyses</i> _____	<b>21</b>
	3.3.4 <i>Calculs</i> _____	<b>23</b>
	3.3.5 <i>Interprétation</i> _____	<b>26</b>
	<b>3.4 Conclusion</b> _____	<b>28</b>
	 <i>Annexe 1 - Méthode alternative</i> _____	<b>29</b>
	 <i>Annexe 2 - Méthode de référence</i> _____	<b>31</b>
	 <i>Annexe 3 – Exactitude relative : résultats bruts (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>32</b>
	 <i>Annexe 4 – Exactitude relative : résultats bruts (Etude d'extension - Septembre 2008)</i> _____	<b>39</b>
	 <i>Annexe 5 – Inclusivité et exclusivité : résultats bruts (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>42</b>
	 <i>Annexe 6 – Calcul du degré d'accord (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>44</b>
	 <i>Annexe 7 - Calcul de la concordance (Validation initiale – Juin 2008)</i> _____	<b>46</b>

**Les modifications apportées au rapport sont surlignées.**

### ***Avant Propos***

L'ensemble des renseignements permettant de valider la garantie des analyses est tenu à la disposition de la Société Bio-Rad.

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

- 
- ✓ **Fabricant :** BIO-RAD  
3 boulevard Raymond Poincaré  
92430 MARNES LA COQUETTE
  
  - ✓ **Laboratoire expert :** ADRIA Développement  
ZA Creac'h Gwen  
29196 QUIMPER Cedex
  
  - ✓ **Méthode à valider :** Méthode iQ Check™ *E. coli* O157:H7 pour la recherche de *Escherichia coli* O157:H7
  
  - ✓ **Référentiel de validation :** Norme EN ISO 16140 (octobre 2003) : microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes alternatives
  
  - ✓ **Méthode de référence :** Norme EN ISO 16654\* : méthode horizontale pour la recherche d'*Escherichia coli* O157 (juillet 2001)
  
  - ✓ **Etendue de la validation :** Viandes crues de bœuf
  
  - ✓ **Organisme certificateur :** AFNOR Certification

---

\* EN ISO 16654 : essai effectué sous le couvert de l'accréditation par le laboratoire expert

## 1 INTRODUCTION

---

La méthode iQ-Check™ *E. coli* O157:H7 II (n° attestation : BRD 07/15 – 06/08) a été validée le 30 juin 2008 pour la recherche d'*Escherichia coli* O157:H7 dans les viandes crues de bœuf.

En septembre 2008, une étude d'extension a porté sur l'ajout d'un protocole alternatif d'enrichissement : enrichissement de 20 h en eau peptonée tamponnée à 37°C.

En janvier 2009, une nouvelle étude a permis d'étendre la validation à l'utilisation d'une nouvelle version du logiciel Opticon Monitor™ avec option de retraitement automatique des résultats.

En février 2010, les extensions suivantes ont été réalisées :

- modifications de l'étape d'extraction, avec utilisation d'un nouveau format de consommable plastique « Plaque Deepwell »,
- utilisation du thermocycleur CF96™ et son logiciel CFX Manager™, et pilotage du MiniOpticon™ par le logiciel CFX Manager™.

En mars 2012, une étude d'extension a porté sur l'utilisation du CFX96 Deep Well Touch, et du logiciel CFX Manager IDE v1.2.

En mai 2012, la méthode a été reconduite.

## 2 PROTOCOLES

---

### 2.1 Protocole et principe de la méthode alternative

Deux protocoles (Cf. **Annexe 1**) sont disponibles :

- **Protocole validé initialement :**
  - \* enrichissement en Eau Peptonée Tamponnée (EPT) pendant 8 h à 24 h à 41,5°C,
  - \* lyse simplifiée des bactéries en tube avec broyage mécanique,
  - \* amplification–détection par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) en temps réel.

- **Protocole alternatif validé lors de l'étude d'extension en septembre 2008 :**

- \* enrichissement en Eau Peptonée Tamponnée (EPT) pendant 21 h  $\pm$  1 h à 37°C,
- \* extraction d'ADN en utilisant le protocole « Easy Protocol II »,
- \* amplification–détection par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) en temps réel.

Les confirmations des échantillons positifs sont réalisées par l'une ou l'autre des deux méthodes :

- par isolement direct de 10  $\mu$ l sur gélose CT SMAC (avec ou sans immuno-séparation), suivi d'un test latex O157 et H7 sur colonie,
- par un protocole impliquant une étape d'immuno-séparation (IMS) suivie d'un isolement sur gélose RAPID'*E. coli* O157:H7 et d'un test latex O157 et H7 sur colonie isolée sur TCS.

Pour chaque analyse, l'interprétation est réalisée en prenant en compte le résultat :

- d'un témoin négatif d'amplification afin de s'assurer de l'absence de contamination par un ADN exogène,
- d'un témoin positif d'amplification,
- du contrôle interne d'amplification directement intégré au mélange réactionnel d'amplification, afin de vérifier l'absence d'inhibition de l'ADN polymérase.

Chaque mélange est constitué comme suit :

- d'ADN extrait de l'échantillon,
- d'acide nucléique correspondant au contrôle interne d'amplification,
- d'amorces spécifiques aux séquences génomiques recherchées,
- d'une sonde marquée par le fluorochrome FAM et spécifique de *E. coli* O157:H7,
- d'une sonde marquée par un second fluorochrome, spécifique du contrôle interne
- d'ADN polymérase thermorésistante
- de désoxyribonucléotides
- d'un tampon d'amplification.

## 2.2 Méthode de référence<sup>◆</sup>

La méthode de référence utilisée est la norme EN ISO 16654 : Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour la recherche de *Escherichia coli* O157. Le protocole est présenté en **annexe 2**.

## 3 HISTORIQUE DE LA VALIDATION ET PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

---

### 3.1 Etude comparative des méthodes

#### 3.1.1 Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative (Validation initiale – Juin 2008)

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

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

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

#### Nombre et nature des échantillons

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

Catégories	Positifs* (nombre)	Négatifs (nombre)	Total (nombre)
Viandes crues de bœuf	36	31	67

\* Il s'agit de résultats positifs par l'une ou l'autre des méthodes.

---

◆ Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

### Contamination artificielle des échantillons

Des contaminations artificielles ont été réalisées par des inoculations. 35 échantillons ont été contaminés artificiellement, 35 ont donné un résultat positif par l'une ou l'autre des méthodes. Un seul échantillon naturellement contaminé a été analysé, soit 2,7 %.

### Protocoles de confirmation

Trois protocoles de confirmation ont été évalués :

- isolement direct de 10 µl de bouillon (EPT) sur gélose CT SMAC,
- IMS sur 1 ml d'EPT suivi d'un isolement de 50 µl sur gélose RAPID' *E. coli* O157:H7,
- IMS sur 1 ml d'EPT suivi d'un isolement de 50 µl sur gélose CT SMAC.

### Résultats des essais

Les résultats bruts sont présentés en **annexe 3**.

Tous protocoles de confirmation confondus pour la méthode alternative, les résultats sont les suivants :

	Protocole 8 heures		Protocole 24 heures	
	Méthode de référence +	Méthode de référence -	Méthode de référence +	Méthode de référence -
Méthode alternative +	28	4	31	4
Méthode alternative -	4 <sup>(1)</sup>	31	1	31

<sup>(1)</sup> Dont aucun échantillon positif par PCR non confirmé

Le résultat détaillé des confirmations est donné dans le tableau ci-après :

**Tableau 1 - Calcul de l'exactitude (AC), de la sensibilité relative (SE)  
et de la spécificité relative (SP)**

Matrices	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA)]/N]	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA]/N+]	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA]/N-]
<b>Protocole 8 heures</b>										
CT SMAC	27	31	5	4	67	86,6	32	84,4	35	88,6
IMS-CT SMAC	28	31	4	4	67	88,1	32	87,5	35	88,6
IMS-Rapid'E.coli O157:H7	25	33	5	4	67	86,6	30	83,3	37	89,2
<b>Protocole 24 heures</b>										
CT SMAC	28	31	4	4	67	88,1	32	87,5	35	88,6
IMS-CT SMAC	30	31	2	4	67	91,0	32	93,8	35	88,6
IMS-Rapid'E.coli O157:H7	28	31	4	4	67	88,1	32	87,5	35	88,6
<b>Toutes méthodes de confirmation confondues</b>										
Protocole 8H	28	31	4	4	67	88,1	32	87,5	35	88,6
Protocole 24H	31	31	1	4	67	92,5	32	96,9	35	88,6

Les valeurs de sensibilité, recalculées en tenant compte des positifs supplémentaires confirmés, sont données dans le tableau ci-après :

	Méthode alternative :	Méthode de référence :
<b>Protocole 8 heures</b>	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) =$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) =$
Isolement direct sur CT SMAC	86,1	88,9
IMS + isolement sur RAPID'E.coli O157 :H7	85,3	88,2
IMS + isolement sur CT SMAC	88,9	88,9
<b>Protocole 24 heures</b>	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) =$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) =$
Isolement direct sur CT SMAC	88,9	88,9
IMS + isolement sur RAPID'E.coli O157 :H7	88,9	88,9
IMS + isolement sur CT SMAC	94,4	88,9
<b>Toutes méthodes de confirmation confondues</b>	$(PA + PD) / (PA + PD + ND) =$	$(PA + ND) / (PA + PD + ND) =$
<b>8 h</b>	88,9	88,9
<b>24 h</b>	97,2	88,9



### Analyse des discordants

Un tableau récapitulatif des échantillons discordants (déviations négatives) est donné ci-après en fonction des protocoles :

	N° éch.
<b>Protocole 8 heures</b>	2687
	2694
	2705
	2706
<b>Protocole 24 heures</b>	2705

Sur quatre déviations négatives observées après 8 h d'incubation, trois échantillons deviennent concordants après une incubation de 24 h.

Le nombre de discordants, ainsi que l'interprétation sont donnés, en fonction des protocoles, dans le tableau ci-après :

	y = ND + PD	M	m	Conclusion
<b>Protocole 8 heures</b>				
Isolement direct sur CT SMAC	$Y = 5 + 4 = 9$	1	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
IMS + isolement sur RAPID'E.coli O157:H7	$y = 5 + 4 = 9$	1	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
IMS + isolement sur CT SMAC	$y = 4 + 4 = 8$	0	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
<b>Protocole 24 heures</b>				
Isolement direct sur CT SMAC	$y = 4 + 4 = 8$	0	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
IMS + isolement sur RAPID'E.coli O157:H7	$y = 4 + 4 = 8$	0	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
IMS + isolement sur CT SMAC	$y = 2 + 4 = 6$	0	2	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
<b>Toutes méthodes de confirmation confondues (protocole 8 h)</b>	$Y = 4 + 4 = 8$	0	4	$m > M$ Les deux méthodes ne sont pas différentes.
<b>Toutes méthodes de confirmation confondues (protocole 24 h)</b>	$Y = 1 + 4 = 5$	/	/	$Y < 6$ , aucun test statistique n'est disponible

### 3.1.2 *Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative (Etude d'extension – Septembre 2008)*

#### Nombre et nature des échantillons

Des viandes crues de bœuf ont été analysées, de façon à obtenir au minimum 30 échantillons positifs et 30 échantillons négatifs.

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

Catégorie	Positifs* (nombre)	Négatifs (nombre)	Total (nombre)
Viandes crues de bœuf	31	31	62

\* Il s'agit de résultats positifs par l'une ou l'autre des méthodes

#### Contamination artificielle des échantillons

30 échantillons ont été contaminés artificiellement par des souches ayant subi un stress. Tous ces produits ont donné un résultat positif (par l'une ou l'autre des méthodes). Un échantillon naturellement contaminé (n° 604) a été obtenu.

Le pourcentage de produits positifs naturellement contaminés est de 3,2 %.

#### Protocole de confirmation

Les résultats positifs obtenus par la méthode iQ Check™ *E. coli* O157:H7 ont été confirmés :

- soit par isolement direct de 10 µl d'enrichissement sur gélose CT SMAC,
- soit par isolement sur gélose CT SMAC ou RAPID' *E. coli* O157:H7 après réalisation d'une étape d'immuno-séparation.

 Résultats des essais

Les résultats bruts sont donnés en **Annexe 4**.

**Tableau 2 - Toutes méthodes de confirmation confondues**

Réponses	Méthode de référence Positifs (R+)	Méthode de référence Négatifs (R-)
Méthode alternative Positifs (A+)	Accord positif (A+/R+) <b>PA = 28</b>	Déviations positives (R-/A+) <b>PD = 1</b>
Méthode alternative Négatifs (A-)	Déviations négatives (A-/R+) <b>ND = 2<sup>(1)</sup></b>	Accord négatif (A-/R-) <b>NA = 31</b>

<sup>(1)</sup> dont 1 résultat positif PCR non confirmé (éch. n° 375)

Isolement direct - CT SMAC		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) <b>PA = 24</b>	Déviations positives (R-/A+) <b>PD = 0</b>
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) <b>ND = 6<sup>(2)</sup></b>	Accord négatif (A-/R-) <b>NA = 32<sup>(3)</sup></b>

<sup>(2)</sup> dont 5 résultats positifs PCR non confirmés (éch. n° 374, 375, 376, 390, 604)

<sup>(3)</sup> dont 1 résultat positif PCR non confirmé (éch. n° 389)

IMS - CT SMAC		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) <b>PA = 28</b>	Déviations positives (R-/A+) <b>PD = 0</b>
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) <b>ND = 2<sup>(4)</sup></b>	Accord négatif (A-/R-) <b>NA = 32<sup>(5)</sup></b>

<sup>(4)</sup> dont 1 résultat positif PCR non confirmé (éch. n° 375)

<sup>(5)</sup> dont 1 résultat positif PCR non confirmé (éch. n° 389)

IMS - Rapid'E.coli O157:H7		
Réponses	Méthode de référence positive (R+)	Méthode de référence négative (R-)
Méthode alternative positive (A+)	Accord positif (A+/R+) <b>PA = 27</b>	Déviations positives (R-/A+) <b>PD = 1</b>
Méthode alternative négative (A-)	Déviations négatives (A-/R+) <b>ND = 3<sup>(6)</sup></b>	Accord négatif (A-/R-) <b>NA = 31</b>

<sup>(6)</sup> dont 2 résultats positifs PCR non confirmés (éch. n° 375, 376)

**Tableau 3 - Calcul de l'exactitude relative (AC), de la sensibilité relative (SE) et de la spécificité relative (SP)**

Méthode de confirmation	PA	NA	ND	PD	N	Exactitude relative AC (%) [100x(PA+NA)/N]	N+ PA + ND	Sensibilité relative SE (%) [100xPA/N+]	N- NA + PD	Spécificité relative SP (%) [100xNA/N-]
Isolement direct - CT SMAC	24	32	6	0	62	90,3	30	80,0	32	100,0
IMS - CT SMAC	28	32	2	0	62	96,8	30	93,3	32	100,0
IMS - Rapid'E.coli O157:H7	27	31	3	1	62	93,5	30	90,0	32	96,9
Toutes méthodes de confirmation confondues	28	31	2	1	62	95,2	30	93,3	32	96,9

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

Exactitude relative AC	95,2
Spécificité relative SP	96,9
Sensibilité relative SE	93,3

Les sensibilités des deux méthodes, en tenant compte des positifs supplémentaires obtenus pour la méthode alternative, sont les suivantes :

	Méthode alternative	Méthode de référence
Toutes méthodes de confirmation confondues	93,5	96,8

### Analyse des discordants

Les échantillons présentant des déviations négatives sont listés ci-après :

Déviations négatives					
Réf. éch.	PCR	CT SMAC	IMS / CT SMAC	IMS / RAPID'E. coli	Toutes méthodes de confirmation confondues
374	+	-	+	+	+
375	+	-	-	-	-
376	+	-	+	-	+
383	-	-	-	-	-
390	+	-	+	+	+
604	+	-	+	+	+
Total	1	6	2	3	2

Cinq déviations négatives sont liées à un problème de confirmation par isolement direct sur gélose CT SMAC (échantillons n° 374, 375, 376, 390, 604). Les résultats présomptifs par PCR sont confirmés par réalisation d'une IMS avant isolement.

Une déviation négative est liée à l'obtention d'un résultat négatif par PCR (échantillon n° 383) ; celui-ci peut s'expliquer par la réalisation de deux enrichissements différents.

Une seule déviation positive a été observée ; il s'agit de l'échantillon n° 389. Le nombre de discordants entre la méthode de référence et la méthode alternative (toutes méthodes de confirmation confondues) est de :

$$y = ND + PD = 2 + 1 = 3$$

$$y = 6$$

Aucun test statistique n'est disponible.

### 3.1.3 Niveau de détection relatif (Validation initiale – Juin 2008)

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

#### Matrice utilisée

La matrice utilisée est du steak haché inoculé par *E. coli* O157:H7 Ad 485, isolée de steak haché.

#### Protocole de contamination

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

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

## Résultats

**Tableau 4 - Résultats des niveaux de détection relatifs**

Protocole	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g ou 25 ml) selon le test de Spearman-Kärber <sup>1</sup>	
	Méthode de référence	Méthode alternative
Protocole 8 H	0,545 [0,153 ; 1,939]	0,726 [0,235 ; 2,243]
Protocole 24 H	0,545 [0,153 ; 1,939]	0,444 [0,141 ; 1,738]

## Conclusion

Les niveaux de détection relatifs de la méthode de référence et de la méthode alternative sont d'ordre similaire.

### **3.1.4 Niveau de détection relatif (Etude d'extension – Septembre 2008)**

#### Matrice utilisée

La matrice testée est de la viande de bœuf hachée crue, inoculée par *E. coli* O157:H7 Ad 485.

La limite de détection a été définie par l'analyse du couple (matrice / souche) à quatre niveaux. Six réplicats de chaque condition ont été réalisés.

#### Protocole de contamination

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

Les échantillons ont été analysés en parallèle par la méthode alternative et par la méthode de référence.

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

## Résultats

**Tableau 5 - Résultats des niveaux de détection relatifs**

Protocole	Niveau de détection relatif (UFC / 25 g) selon le test de Spearman-Kärber <sup>2</sup>	
	Méthode de référence	Méthode alternative
Steak haché / <i>E. coli</i> O157:H7 ad 485	0,313 [0,099 ; 0,991]	0,211 [0,06 ; 0,736]

Le niveau de détection relatif est compris :

- entre 0,1 et 1,0 pour la méthode de référence,
- entre 0,1 et 0,7 pour la méthode iQ Check™ *E. coli* O157 :H7.

**Les niveaux de détection de la méthode alternative sont similaires à ceux de la méthode de référence.**

### **3.1.5 Inklusivité et exclusivité (Validation initiale – Juin 2008)**

#### Protocoles d'essai

**Protocole pour l'inclusivité** : Les souches ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI puis diluées et inoculées en eau peptonée tamponnée, incubées 8 heures à 41,5°C. Le protocole de la méthode alternative a ensuite été appliqué.

**Protocole pour l'exclusivité** : Les souches ont été décongelées et mises en culture en bouillon BHI puis inoculées à un taux d'environ 10<sup>5</sup>/ml d'eau peptonée tamponnée, incubées à 41,5°C pendant 24 heures. Le protocole de la méthode alternative a ensuite été appliqué.

#### Résultats

Les résultats sont présentés en **Annexe 5**.

- inclusivité : toutes les souches testées ont donné un test PCR positif.
- exclusivité : aucune réaction croisée n'a été observée.

<sup>2</sup> "Hitchins A. Proposed Use of a 50 % Limit of Detection Value in Defining Uncertainty Limits in the Validation of Presence-Absence Microbial Detection Methods, Draft 10th December, 2003".

## 3.2 Praticabilité

La praticabilité a été évaluée d'après les treize critères définis dans les exigences relatives aux études de validation :

<p>✓ <b>Mode de conditionnement des éléments de la méthode</b></p> <p>✓ <b>Volume de réactifs</b></p>	<p>Les éléments sont donnés page 2/13 de la notice. Le kit est constitué de :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- réactif de lyse</li> <li>- sondes fluorescentes</li> <li>- solution d'amplification</li> <li>- contrôle PCR négatif</li> <li>- contrôle PCR positif</li> </ul> <p>Les volumes des réactifs sont indiqués page 2/13 de la notice.</p>
<p>✓ <b>Condition de stockage des éléments et péremption des produits non ouverts</b></p>	<p>La température de stockage est indiquée sur le kit et sur la notice page 2/13 ; elle est de 2 - 8°C.</p> <p>La date de péremption est indiquée sur le kit, ainsi que sur chaque flacon ou tube de réactif.</p>
<p>✓ <b>Modalités d'utilisation après première utilisation</b></p>	<p>Les réactifs sont utilisés jusqu'à épuisement.</p>
<p>✓ <b>Equipements en locaux spécifiques nécessaires</b></p>	<p>Le matériel et les consommables nécessaires sont indiqués pages 2 et 3/13 de la notice.</p>
<p>✓ <b>Réactifs prêts à l'emploi ou à reconstituer</b></p>	<p>La préparation du mélange réactionnel est décrite page 9/13 de la notice. Les autres réactifs sont prêts à l'emploi.</p>
<p>✓ <b>Durée de formation de l'opérateur non initié à la méthode</b></p>	<p>Un technicien connaissant les techniques de microbiologie et biologie moléculaire peut être formé en 1 jour.</p>



✓ <b>Temps réel de manipulation et flexibilité de la méthode</b>	<i>Temps en minutes pour des échantillons négatifs</i>				
	Étapes	Méthode de référence		Méthode alternative	
		12 éch.	32 éch.	12 éch.	32 éch.
	Prélèvement, broyage	54	105	54	105
	IMS 6 h	48	85		
	IMS 24 h, si nécessaire	48	85		
	Prélèvement pour PCR, extraction			18	48
	PCR			20	43
	Lecture géloses	5	10		
	Total échantillons négatifs	155	285	92	196
	Total/échantillon négatif	13	9	8	6
	<i>Temps en minutes pour des échantillons positifs ou présentant des colonies suspectes</i>				
	Étapes	Méthode de référence		Méthode alternative	
		12 éch.	32 éch.	12 éch.	32 éch.
	Isolement sur gélose sans IMS			5	10
	Lecture des géloses			2	5
	Isolement sur gélose nutritive	10	25	10	25
	Indole	24	72		
	Test latex	18	48	6	15
	Total échantillons positifs	207	430	115	251
Total/échantillon positif	17	13	10	8	
✓ <b>Délai d'obtention des résultats</b>	<i>Si aucune colonie suspecte n'est visible sur les milieux, les délais d'obtention des résultats sont les suivants :</i>				
	Étape	Méthode de référence	Méthode alternative		
			Protocole 8 h	Protocole 24 h	
	Prélèvement, broyage	J0	J0		
	IMS 6 h	J0			
	IMS 24 h	J1			
	Extraction, PCR		J0	J1	
	Obtention résultat négatif	J1	J0	J1	
	<i>Si des colonies sont présentes sur les géloses sélectives ou si le test PCR est positif, les délais d'obtention des résultats sont les suivants :</i>				
	Étape	Méthode de référence	Méthode alternative		
			Protocole 8 h	Protocole 24 h	
	Prélèvement, broyage	J0	J0	J0	
	IMS 6 h	J0			
	IMS 24 h	J1			
	PCR		J0	J1	
	Isolement sur géloses sélectives		J0	J1	
Isolement sur gélose nutritive	J1 - J2	J1	J2		
Test Indole	J2 - J3				
Test latex	J3 - J4	J1	J2		

✓ <b>Type de qualification de l'opérateur</b>	Elle est identique à celle nécessaire à la mise en œuvre de la méthode de référence.
✓ <b>Etapes communes avec la méthode de référence</b>	Aucune
✓ <b>Traçabilité des résultats</b>	La traçabilité est celle habituellement appliquée dans un laboratoire de microbiologie
✓ <b>Maintenance par le laboratoire</b>	Sans objet

Conclusion : Le temps de manipulation pour la méthode alternative est divisé par un facteur 1,5 par rapport à la méthode de référence. Le délai d'obtention des résultats positifs par la méthode alternative est compris entre 1 et 2 jours selon le temps d'enrichissement réalisé, celui de la méthode de référence étant compris entre 3 et 4 jours.

### 3.3 Etude interlaboratoire (Validation initiale 2008)

#### 3.3.1 Organisation de l'étude

Quatorze laboratoires ont participé à l'étude qui a porté sur de la viande hachée inoculée par *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43888.

Les échantillons ont été inoculés individuellement. Chaque laboratoire a reçu 48 sachets (sacs Stomacher).

Tous les échantillons ont été répartis par le laboratoire expert en sachets stériles, à raison de 25 g par sachet, avant d'être contaminés.

Les taux d'inoculation visés étaient les suivants :

- 0 UFC/25 ml,
- 1 – 10 UFC/25 ml,
- 5 – 50 UFC/25 ml.

Les échantillons codés (code connu uniquement du laboratoire expert) ont été placés dans des caisses isothermes contenant des blocs réfrigérants et expédiés aux différents laboratoires à l'aide d'un transport express.

Un flacon témoin température contenant un enregistreur de température a été joint au colis, afin de suivre la température au cours du transport et de la mesurer à réception.

Chaque laboratoire, identifié par une lettre, a reçu :

- 24 échantillons (25 g) codés pour la recherche de *Escherichia coli* O157:H7 par la méthode iQ Check™ *E. coli* O157:H7 et 24 échantillons pour la recherche *E. coli* O157:H7 par la méthode de référence ISO 16654,
- 1 échantillon non codé pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile du steak par la méthode ISO 4833,
- 1 flacon d'eau contenant un enregistreur de température.

Les réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la méthode alternative et de la méthode de référence ont été fournis par la Société Bio-Rad et ADRIA Développement.

### 3.3.2 **Contrôle des paramètres expérimentaux**

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

##### Avant ensemencement

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

##### Taux obtenus après contamination artificielle

Les taux de contamination obtenus dans la matrice sont donnés dans le tableau suivant :

Niveau	Echantillons	Taux théorique ciblé (bactéries / 25g)	Taux réel	Estimation de la limite supérieure de la contamination (25 g échantillon)	Estimation de la limite supérieure de la contamination
1	3, 4, 8, 11, 14, 16, 21, 22	/	/	/	/
2	2, 7, 10, 12, 17, 18, 20, 24	5	10	8,7	11,6
3	1, 5, 6, 9, 13, 15, 19, 23	25	43	37,3	49

☐ *Stabilité des échantillons*

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

Jour	UFC/25 g (CT-SMAC)			Recherche / 25 g		
	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3
J0	46	34	57	+	+	+
J1	34	40	46	+	+	+

Aucune évolution de la souche inoculée n'est observée après 24 h de conservation des échantillons à 4°C.

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

Les températures au cours du transport et mesurées à réception, ainsi que le délai de réception des échantillons sont donnés dans le Tableau 6.

**Tableau 6 - Température des échantillons à réception**

Laboratoires	Température relevée par le thermobouton (°C)	Température mesurée à réception (°C)	Date de réception des échantillons
A	2,5	2,6	J1
B	3,0	4,0	J1
C	3,5	3,1	J1
D	2,0	2,9	J1
E	2,5	2,8	J1
F	2,5	Non communiqué	Analyses non réalisées
G	3,0	4,5	J1
H	2,5	10,3	J1
I	3,0	4,5	J1
J	2,0	4,7	J1
K	4,0	4,3	J1
L	3,0	4,5	J1
M	4,0	6,4	J1
N	3,5	3,8	J1

### Conclusion

Aucune anomalie n'a été observée pendant le transport.

Le laboratoire H a relevé une température à réception de 10,3°C, la température relevée par le thermobouton était de 2,5°C.

Le laboratoire F n'a pas été en mesure de réaliser les analyses.

### 3.3.3 *Résultats des analyses*

#### Dénombrement de la flore aérobie mésophile

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile de la matrice a été effectué sur un échantillon selon la méthode ISO 4833. Le résultat varie entre 770 et 9 500 UFC/g.

#### Résultats obtenus par le laboratoire expert

Deux échantillons (012 et 018) inoculés au faible taux ont donné un résultat négatif par la méthode de référence. Tous les échantillons inoculés au taux fort ont donné un résultat positif par les deux méthodes.

Les résultats sont reportés dans le tableau suivant :

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	0/8	<b>0/8</b>
L1	<b>6/8</b>	8/8
L2	8/8	8/8

#### Résultats obtenus par les laboratoires collaborateurs

Un certain nombre de tests latex H7 a donné un résultat négatif dans les laboratoires collaborateurs (laboratoires B et G). Il a été demandé à ces laboratoires de transmettre les boîtes afin de vérifier le test latex. Ces laboratoires n'ont pas été en mesure de les transmettre, car elles ont été détruites. Il a donc été considéré que les souches isolées étaient des *Escherichia coli* O157:H7, les agglutinations des tests latex H7 étant particulièrement fines.

Le laboratoire F n'ayant pas effectué les analyses, les résultats de 13 laboratoires sont disponibles.

Des inter-contaminations probables sont observées pour trois laboratoires : laboratoires B, K et L. Le détail de ces résultats est présenté au paragraphe « Etude des résultats discordants ».

Les résultats de tous les laboratoires ayant réalisé les analyses sont reportés dans les tableaux suivants :

**Tableau 7 - Résultats positifs obtenus par la méthode de référence**

Laboratoire	L0	L1	L2
A	0/8	8/8	8/8
B	<b>1/8</b>	8/8	8/8
C	0/8	8/8	8/8
D	0/8	8/8	8/8
E	0/8	8/8	8/8
G	0/8	8/8	8/8
H	0/8	8/8	8/8
I	0/8	<b>7/8</b>	8/8
J	0/8	<b>6/8</b>	8/8
K	<b>3/8</b>	8/8	8/8
L	<b>4/8</b>	8/8	8/8
M	0/8	8/8	8/8
N	0/8	8/8	8/8

**Tableau 8 - Résultats positifs obtenus par la méthode alternative**

Laboratoire	L0	L1	L2
A	0/8	8/8	8/8
B	<b>1/8</b>	8/8	8/8
C	0/8	8/8	8/8
D	0/8	8/8	8/8
E	0/8	8/8	8/8
G	0/8	8/8	8/8
H	0/8	8/8	8/8
I	0/8	8/8	8/8
J	0/8	8/8	8/8
K	<b>2/8</b>	8/8	8/8
L	0/8	8/8	8/8
M	0/8	8/8	8/8
N	0/8	8/8	8/8

### 3.3.4 Calculs

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

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

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

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

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

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

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

Les résultats sont reportés dans les tableaux suivants :

Niveau	Méthode de référence		Méthode alternative	
	SP/SE %	LCL%	SP/SE %	LCL%
L0(SP)	92,3	84	97,1	93
L1(SE)	97,1	93	100,0	98
L2(SE)	100,0	98	100,0	98
L1+L2(SE)	98,6	96	100,0	98

 Calcul de l'exactitude relative (AC)

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

**Tableau 9 - Couples de résultats de la méthode alternative et de la méthode de référence dans le cadre de l'étude interlaboratoire**

Méthode alternative	Méthode de référence		Total
	+	-	
+	PA = 208	PD = 3	211
-	ND = 5	NA = 96	101
<b>Total</b>	N+ = 213	N- = 99	N = 312

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

avec : N = nombre d'échantillons soumis à essai  
 PA = nombre d'accords positifs  
 NA = nombre d'accords négatifs

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

Niveau	AC %	LCL %
L0	95,2	89
L1	97,1	93
L2	100,0	98
L1 + L2	98,6	93
<b>Total</b>	<b>97,4</b>	<b>93</b>



### Etude des résultats discordants

Des discordances ont été observées, certaines relevant probablement d'inter-contaminations, d'autres pouvant être attribuées à l'échantillonnage du fait d'un enrichissement différent entre les deux méthodes, ou encore à une meilleure sensibilité de la méthode alternative :

- pour le laboratoire B : parmi les échantillons non inoculés, ont été obtenus des résultats :
  - \* positifs présomptifs non confirmés par la méthode alternative,
  - \* positifs confirmés par la méthode alternative et par la méthode de référence.

Il s'agit probablement d'inter-contaminations lors des premières étapes de l'analyse et/ou lors de la réalisation des mélanges réactionnels d'amplification.

- pour le laboratoire I : au faible taux, un résultat négatif a été obtenu pour la méthode de référence (échantillon I2) et positif confirmé par la méthode alternative,
- pour le laboratoire J : au faible taux, ce laboratoire a obtenu deux résultats négatifs (échantillons J2 et J10) par la méthode de référence et positifs confirmés par la méthode alternative.
- pour le laboratoire K : ce laboratoire a trouvé trois résultats positifs par la méthode de référence sur des échantillons témoins (échantillons K11, K14 et K16) et deux résultats positifs par la méthode alternative (échantillons K11 et K14). Il s'agit probablement d'inter-contaminations dans les premières étapes des analyses.
- pour le laboratoire L : quatre échantillons non inoculés (L3, L4, L16 et L22) ont donné un résultat positif par la méthode de référence uniquement. Il s'agit probablement d'inter-contaminations dans la réalisation de la méthode de référence.

Y = PD + ND	Y = 3 + 5 = 8
m	3
M	0
Conclusion	m > M Les méthodes ne sont pas différentes à $\alpha < 0,05$

### 3.3.5 Interprétation

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

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

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

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

Les valeurs obtenues dans les deux parties de l'étude de validation (étude comparative des méthodes et étude interlaboratoire) sont reportées dans le tableau 10 :

**Tableau 10 - Comparaison des valeurs obtenues lors de l'étude interlaboratoire avec celles obtenues dans le cadre de l'étude comparative des méthodes, pour la méthode alternative**

	Etude interlaboratoire	Etude comparative des méthodes
<b>Exactitude relative (AC)</b>	97,4	92,5
<b>Sensibilité (SE)</b>	100,0	97,2
<b>Spécificité (SP)</b>	97,1	88,6

#### Degré d'accord (DA)

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

Le degré d'accord est ainsi l'équivalent de la répétabilité pour les méthodes quantitatives.

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

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	91 %	95 %
L1	95 %	100 %
L2	100 %	100 %

Les résultats sont donnés en **Annexe 6**.

### Concordance

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

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

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	85 %	89 %
L1	94 %	100 %
L2	100 %	100 %

Les résultats sont donnés en **Annexe 7**.

### Odds Ratio (COR)

Il est calculé selon la formule suivante :

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

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

Niveau	Méthode de référence	Méthode alternative
L0	1,8	2,3
L1	1,2	1,0
L2	1,0	1,0

### Conclusion

Quelles que soient les interprétations réalisées, la variabilité de la méthode alternative (degré d'accord, concordance, odds ratio) est identique à celle de la méthode de référence.

## 3.4 Conclusion

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

### ***Exactitude relative, spécificité relative et sensibilité relative***

La méthode iQ-Check™ *E. coli* O157:H7 montre une exactitude relative, une spécificité relatives et une sensibilité relative satisfaisantes.

L'étape d'enrichissement étant non sélective, les colonies isolées sur gélose de confirmation sont à caractériser par des tests d'agglutination.

### ***Niveau de détection relatif***

Les niveaux de détection relatifs de la méthode de référence et de la méthode alternative sont d'ordre similaire.

### ***Inclusivité et exclusivité***

La méthode iQ-Check™ *E. coli* O157:H7 présente une inclusivité et une exclusivité satisfaisantes.

### ***Praticabilité***

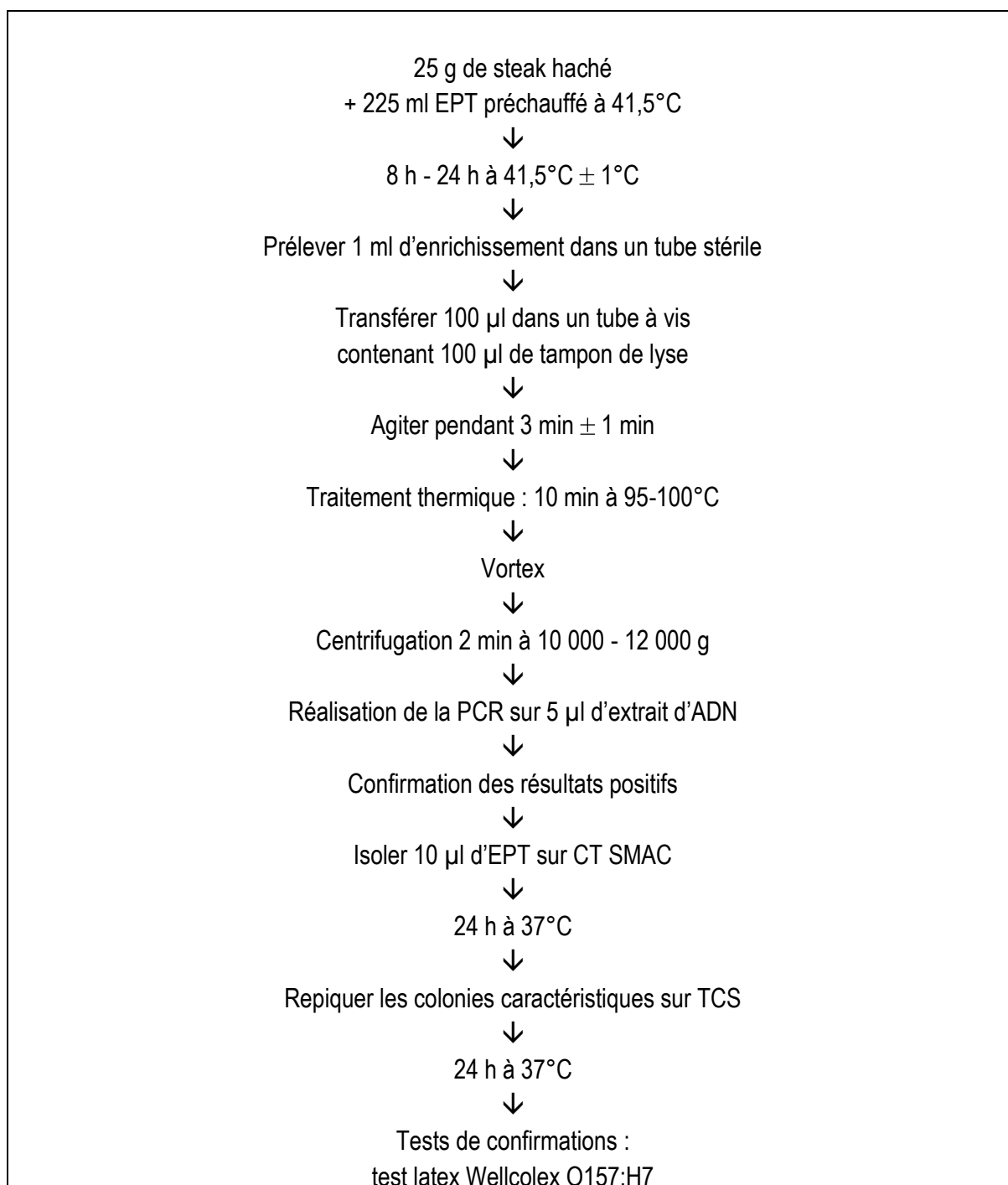
La méthode iQ-Check™ *E. coli* O157:H7 permet de diminuer le temps de manipulation et le délai d'obtention des résultats positifs.

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

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

## Annexe 1 - Méthode alternative

### Protocole validé initialement (juin 2008)



 **Protocole alternatif validé lors de l'étude d'extension (septembre 2008)**

25 g + 225 ml d'Eau Peptonée Tamponnée



20 h à 37°C



Easy Protocol II

Dans un 1 tube :

100 µl réactif de lyse (A + F)

+ 100 µl EPT agitée puis décantée



Disruptor Genie

(3 min ± 1 min)



95 - 100°C, 10 - 15 min



Centrifuger 2 min

10 000 - 12 000 g



PCR sur 5 µl

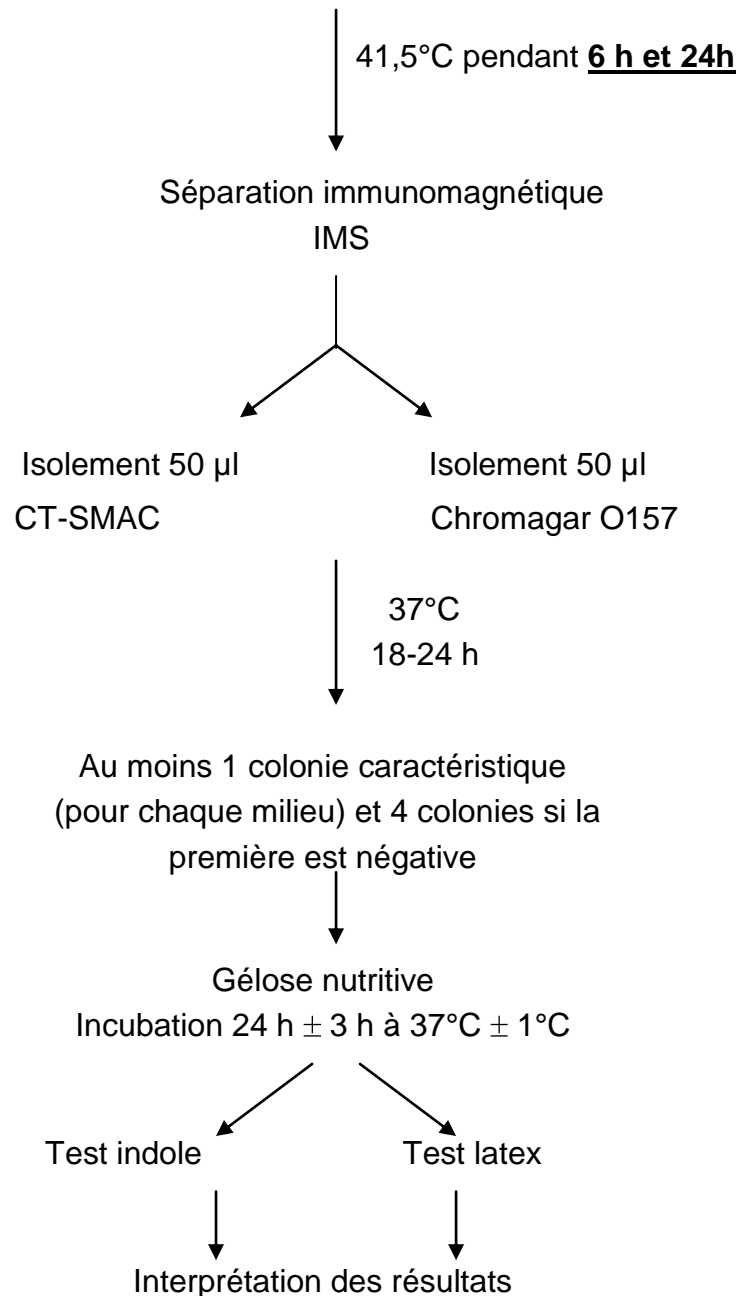
d'extrait d'ADN



Confirmation

**Annexe 2 - Méthode de référence**  
**Microbiologie des aliments - Méthode horizontale**  
**pour la recherche des *Escherichia coli* O157**

x g d'échantillon + 9x g de mTSB + N préchauffé à 41,5°C  
en sacs Stomacher bag filter



### Annexe 3 – Exactitude relative : résultats bruts (Validation initiale – Juin 2008)

\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654 ♦					Méthode alternative - Incubation 8 heures														Résultat final	Concordance				
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct - CT SMAC					IMS											
		IMS 6H		IMS 24H			HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes			Latex		Résultat	CT SMAC		Rapid E.coli O157:H7								
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157					Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes		O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157			H7	Résultat		
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157		HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7			Résultat			
2676	Boulettes au bœuf 15%MG	-st	-st	-	-	-	34,3	33,76	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	+
2677	Boulettes au bœuf 15%MG	-st	-st	-	-	-	33,47	34,12	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	+
2678	Boulettes au bœuf 15%MG	-st	-st	+p	+p	+	34,81	34,73	+	+m	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2679	Haché tradition pur bœuf	+m	+m	+m(2col)	+m(2col)	+	33,11	37,52	+	+m(1col)	+	+	+	+1/2	+	+	+	+m	+	+	+	+	+	+	+	=
2680	Haché tradition pur bœuf	+m	+m	-	+m	+	33,01	38,02	+	+m(1-2col)	+	+	+	+1/2	+	+	+	+1/2	a/a/a	/	-	+	+	+	+	=
2681	Haché tradition pur bœuf	+M	+m	+m	+m	+	33,54	31,98	+	+1/2	+	+	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2682	Viande hachée	-st	-st	-	-	-	33,45	31,67	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	PD
2683	Viande hachée	-st	-st	-	-	-	33,73	30,43	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	PD
2684	Viande hachée	+p	+M	+p	+1/2	+	34,06	35,91	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2685	Viande hachée 5%MG	+1/2	+	+m	-	+	33,37	35,69	+	+m	+	+	+	+p	+	+	+	+p	a/+a	+	+	+	+	+	+	=
2686	Viande hachée 5%MG	+p	+m	+1/2	-	+	33,76	36,48	+	+m	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2687	Viande hachée 5%MG	+p	+m	+m	-	+	33,72	N/A	-	-	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	-	-	ND
2688	Steak haché 15%MG	+M	+m	+M	+m	+	33,17	35,84	+	+1/2	+	+	+	+p	+	+	+	+M	+	+	+	+	+	+	+	=
2689	Steak haché 15%MG	+p	+M	+M	+m	+	33,09	34,23	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2690	Steak haché 15%MG	+p	+p	+1/2	+m	+	33,5	28,83	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2691	Steak haché 15%MG	+M	+M	+m	+m	+	33,35	29,81	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2692	Steak haché 15%MG	+M	+M	+m	+m	+	33,56	31,2	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2693	Steak haché 15%MG	+p	+M	+m	+m(2col)	+	33,55	31,77	+	+m	+	+	+	+1/2	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=
2694	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	34,58	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	-	-	ND

♦ Essai effectué sous le couvert de l'accréditation



\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654					Méthode alternative - Incubation 8 heures															Résultat final	Concordance	
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct - CT SMAC				IMS										
		IMS 6H		IMS 24H			HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes		Latex		Résultat	CT SMAC			Rapid E.coli O157:H7						
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157					O157	H7	Résultat	Colonies suspectes		O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7	Résultat			
2695	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	33,74	27,55	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2696	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	34,04	26,31	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2697	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	33,03	29,69	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2698	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+p	+	34,32	26	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2699	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	33,41	29,27	+	+M	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2700	Boulettes au bœuf	+p	+p	+p	+M	+	35,82	32,66	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2701	Boulettes au bœuf	+p	+p	+p	+1/2	+	38,05	32,72	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2702	Boulettes au bœuf	-st	-st	+p	-	+	34,53	37,82	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2703	Boulettes au bœuf eco	+m	+m (1col)	+m(1col)	+/- (1col)	+	34,48	39,98	+	-	/	/	-	+1/2	+	+	+	+m	+	+	+	+	+	=
2704	Boulettes au bœuf eco	+p	+M	+p	+m	+	33,86	34,37	+	+1/2	+	+	+	+p	+	+	+	+M	+	+	+	+	+	=
2705	Viande hachée	+m (3col)	-	+m	-	+	34,04	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	ND
2706	Viande hachée	+p	+p	+p	+p	+	33,71	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	ND
2707	Viande hachée	+p	+p	+p	+p	+	33,7	30,4	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2708	Viande hachée tradition 20%MG	+p	+p	+p	+p	+	33,86	36,19	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	=
2709	Viande hachée tradition 20%MG	+M	+m	+m(3col)	+/-m(2col)	+	34,62	34,76	+	+m	+	+	+	+p	+	+	+	+M	+	+	+	+	+	=
2710	Viande hachée tradition 20%MG	+M	+m	+m	+/-m(2col)	+	34,13	39,56	+	+m(4-5col)	+	+	+	+M	+	+	+	+1/2	+	+	+	+	+	=
3110	Boulettes à base de bœuf	-	-	-	-	-	32,34	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=
3111	Tartare de bœuf	-	-	-	-	-	31,67	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=
3112	Steak haché tomate	-	-	-	-	-	32,07	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=
3113	Steak haché façon bouchère	+	-	-	-	-	31,83	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=
3114	Carpaccio parmesan	-	-	-	-	-	31,41	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=
3115	Boulettes à base de bœuf	-	-	-	-	-	31,64	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	-	=

\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654♦					Méthode alternative - Incubation 8 heures															Résultat final	Concordance
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct - CT SMAC					IMS								
		IMS 6H		IMS 24H			HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes			Latex		Résultat	CT SMAC			Rapid E.coli O157:H7				
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157					Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes		O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7		
3116	Bifteck haché pur bœuf 5%MG	-	-	-	-	-	30,63	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3117	Steak haché pur bœuf	-	-	-	-	-	31,12	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3118	Boulettes au bœuf	-	-	-	-	-	31,53	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3119	Haché bolognaise	-	-	-	-	-	31,49	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3120	Hamburgers viande hachée de bœuf	-	-	-	-	-	32,09	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3121	Steak haché pur bœuf	-	-	-	-	-	32,03	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3122	Steak haché frais pur bœuf	-	-	-	-	-	31,99	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3123	Rumsteak à griller	-	-	-	-	-	23,69	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3124	Haché façon boucherie	-	+	-	+/-	-	31,55	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3125	Tartare façon bouchère	-	-	-	-	-	30,95	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3126	Boulettes de viande	-	-	-	-	-	31,45	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3127	Onglet à bifteck	+	+	+	+	+	31,49	37,68	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+/-m	+	+	+	+	=
3128	Steak haché	-	-	-	-	-	32,07	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3129	Boulettes au bœuf	-	-	-	-	-	32,08	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3130	Bavette	-	-	-	-	-	32,28	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3131	Steak haché façon bouchère	-	-	-	-	-	31,75	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3132	Steak haché assaisonné aux oignons	-	-	-	-	-	31,79	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3133	Rond de gîte à bifteck	-	-	-	-	-	31,45	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3134	Boulettes kefta	-	-	-	-	-	31,97	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3135	Basse côte à griller	-	-	-	-	-	32,48	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3136	Mini boulettes au bœuf	-	-	-	-	-	31,76	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3137	Carpaccio pur bœuf	-	-	-	-	-	32,01	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=

\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654 ♦					Méthode alternative - Incubation 8 heures															Résultat final	Concordance
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct - CT SMAC						IMS							
		IMS 6H		IMS 24H						CT SMAC			Rapid E.coli O157:H7										
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157		HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes	Latex		Résultat	Colonies suspectes	Latex		Résultat	Colonies suspectes	Latex		Résultat		
3138	Aiguillette baronne à bifteck	-	-	-	-	-	31,65	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3139	Steak "petit tendre"	-	-	-	-	-	31,63	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3140	Steak haché façon bouchère	-	-	-	-	-	31,46	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3215	Steak haché pur bœuf frais	-	-	-	-	-	34,71	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=



\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654 ♦					Méthode alternative - Incubation 24 heures														Résultat final	Concordance					
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct CT SMAC				IMS													
		IMS 6H		IMS 24H			HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes	Latex		Résultat	CT SMAC			Rapid E.coli O157:H7										
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157						O157	H7		Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7			Résultat				
2698	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+p	+	34,55	25,06	+	+1/2	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	+	=
2699	Petit tendre haché surgelé	+p	+p	+p	+1/2	+	34,72	27,89	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	+	=
2700	Boulettes au boeuf	+p	+p	+p	+M	+	35,52	29,72	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=	=
2701	Boulettes au boeuf	+p	+p	+p	+1/2	+	34,71	31,38	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+m	+	+	+	+	+	+	+	=	=
2702	Boulettes au boeuf	-st	-st	+p	-	+	35,65	35,73	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	=	=
2703	Boulettes au bœuf eco	+m	+m (1col)	+m(1col)	+/(1col)	+	34,14	40,47	+	+m(2col)	+	+	+	+/-m	+/-	/	-	+/-m	+	+	+	+	+	+	+	=	=
2704	Boulettes au bœuf eco	+p	+M	+p	+m	+	34,13	34,36	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+M	+	+	+	+	+	+	+	=	=
2705	Viande hachée	+m (3col)	-	+m	-	+	34,42	N/A	-	+m	nc/nc/nc	/	-	+/-M	a/a/a	/	-	+/-m	+	+	-	-	-	-	-	ND	
2706	Viande hachée	+p	+p	+p	+p	+	35,2	26,87	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	-	=
2707	Viande hachée	+p	+p	+p	+p	+	34,85	24,6	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	-	=
2708	Viande hachée tradition 20%MG	+p	+p	+p	+p	+	34,5	28,72	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+p	+	+	+	+	+	+	+	-	=
2709	Viande hachée tradition 20%MG	+M	+m	+m(3col)	+/-m(2col)	+	33,95	31,07	+	+m	+	+	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+	+	+	+	-	=
2710	Viande hachée tradition 20%MG	+M	+m	+m	+/-m(2col)	+	34,6	36,27	+	+/-m	a/a/a	/	-	+m	+	+	+	+1/2	+	+	+	+	+	+	-	=	
3110	Boulettes à base de bœuf	-	-	-	-	-	31,24	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3111	Tartare dde bœuf	-	-	-	-	-	31,92	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3112	Steak haché tomate	-	-	-	-	-	31,73	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3113	Steak haché façon bouchère	+	-	-	-	-	31,53	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3114	Carpaccio parmesan	-	-	-	-	-	32,1	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3115	Boulettes à base de bœuf	-	-	-	-	-	32,29	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3116	Bifteck haché pur bœuf 5%MG	-	-	-	-	-	31,29	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3117	Steak haché pur bœuf	-	-	-	-	-	31,36	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3118	Boulettes au boeuf	-	-	-	-	-	31,39	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3119	Haché bolognaise	-	-	-	-	-	30,73	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=

\* Echantillons pour lesquels plus de 3 colonies ont été testées.

N° éch.	Produit	Méthode de référence ISO 16654 ♦					Méthode alternative - Incubation 24 heures															Résultat final	Concordance
		Colonies suspectes				Résultat	Résultat PCR IQ			Isolement direct CT SMAC				IMS									
		IMS 6H		IMS 24H			HEX	FAM	Résultat	Colonies suspectes	Latex		Résultat	CT SMAC			Rapid E.coli O157:H7						
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157						O157	H7		Colonies suspectes	O157	H7	Résultat	Colonies suspectes	O157	H7	Résultat		
3120	Hamburgers viande hachée de bœuf	-	-	-	-	-	31,22	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3121	Steak haché pur bœuf	-	-	-	-	-	30,77	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3122	Steak haché frais pur bœuf	-	-	-	-	-	31,37	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3123	Rumsteak à griller	-	-	-	-	-	31,67	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3124	Haché façon boucherie	-	+	-	+/-	-	31,5	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3125	Tartare façon bouchère	-	-	-	-	-	30,7	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3126	Boulettes de viande	-	-	-	-	-	32,16	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3127	Onglet à bifteack	+	+	+	+	+	31,14	43,58	+	+m	+	+	+	+M	+	+	+	+/-m	+	+	+	-	=
3128	Steak haché	-	-	-	-	-	30,95	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3129	Boulettes au boeuf	-	-	-	-	-	32,04	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3130	Bavette	-	-	-	-	-	31,85	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3131	Steak haché façon bouchère	-	-	-	-	-	31,57	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3132	Steak haché assaisonné aux oignons	-	-	-	-	-	31,46	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3133	Rond de gîte à biftek	-	-	-	-	-	31,71	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3134	Boulettes kefta	-	-	-	-	-	31,59	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3135	Basse côte à griller	-	-	-	-	-	31,07	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3136	Mini boulettes au bœuf	-	-	-	-	-	31,68	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3137	Carpaccio pur bœuf	-	-	-	-	-	31,16	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3138	Aiguillette baronne à bifteck	-	-	-	-	-	31,36	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3139	Steak "petit tendre"	-	-	-	-	-	31,44	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3140	Steak haché façon bouchère	-	-	-	-	-	30,83	N/A	-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=
3215	Steak haché pur bœuf frais	-	-	-	-	-			-	/	/	/	-	/	/	/	-	/	/	/	-	-	=

**Annexe 4 – Exactitude relative : résultats bruts (Etude d’extension - Septembre 2008)**

p : culture pure du germe cible  
+/- : colonies douteuses

M : germe cible majoritaire  
ni : colonies non isolées

m : germe cible minoritaire  
A+ : souche auto-agglutinante

1/2 : 50 % du germe cible

N° Ech.	Produit	Méthode de référence ISO 16654♦				Résultat	Résultat PCR iQ (Extraction Prot.II)			Isolement direct					IMS								Toutes méthodes de confirmation confondues				
		Colonies suspectes					Résultat	HEX	FAM	Résultat	CT SMAC				CT SMAC				Rapid E.coli O157:H7				Résultat	Concordance			
		IMS 6H		IMS 24H							Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex			Résultat final	Concordance	
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157							O157	H7				O157	H7				O157					H7
367	Bifeck Charolais	+	+	/	/	+	N/A	22,98	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
368	Mini boulettes de bœuf	+	+	/	/	+	N/A	34,31	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
369	Steak haché	+	+	/	/	+	N/A	23,67	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
370	Steak haché	+	+	/	/	+	N/A	22,18	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
371	Steak haché	+	+	/	/	+	N/A	22,56	+	+M	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
372	Grill oignon	+	+	+	+	+	35,13	37,74	+	+/-nim/+	+	+	+	=	+1/2	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
373	Steak haché	-	-	+	-	+	36,26	38,82	+	+m	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+m	+	+	+	=	+	=	
374	Boulettes de bœuf	-	+	-	+	+	35,34	37,39	+	-	/	/	-	ND	+/-m	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+	=	
375	Steak haché	+	+	/	/	+	35,36	40,37	+	+/-nim/+	-	/	-	ND	+/-m1col	-	/	-	ND	-	/	/	-	ND	-	ND	
376	Steak haché	+	+	/	/	+	36,22	37,31	+	-	/	/	-	ND	+1/2	+	+	+	=	-	/	/	-	ND	+	=	
377	Mini boulettes de bœuf	+	+	/	/	+	N/A	23,02	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
378	Préparation de viande hachée	+	+	/	/	+	N/A	25,08	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
379	Préparation de viande hachée	+	+	+	+	+	N/A	23,76	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
380	Préparation de viande hachée	-	-	+	+	+	37,23	41,6	+	+/-m	+	+	+	=	+1/2	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+	=	
381	Boulettes de bœuf	+	+	+	+	+	40,94	29,91	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+	=	
382	Boulettes de bœuf	+	+	+	+	+	44,7	28,86	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
383	Plat de côte avec os	+	-	+	+	+	35,79	N/A	-	+p	-	/	-	ND	+p	-	/	-	ND	-	/	/	-	ND	-	ND	
384	Bifteks marinés	+	+	/	/	+	43,99	26,47	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	

♦ Essai effectué sous le couvert de l'accréditation

p : culture pure du germe cible  
+/- : colonies douteuses

M : germe cible majoritaire  
ni : colonies non isolées

m : germe cible minoritaire  
A+ : souche auto-agglutinante

1/2 : 50 % du germe cible

N° Ech.	Produit	Méthode de référence ISO 16654♦				Résultat	Résultat PCR iQ (Extraction Prot.II)			Isolement direct					IMS								Toutes méthodes de confirmation confondues				
		Colonies suspectes					Résultat	HEX	FAM	Résultat	CT SMAC				CT SMAC				Rapid E.coli O157:H7				Résultat	Concordance			
		IMS 6H		IMS 24H							Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex			Résultat final	Concordance	
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157							O157	H7				O157	H7				O157					H7
385	Tartare de bœuf	+	+	/	/	+	N/A	25,33	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+	=	
386	Steak haché à l'oignon	+	+	/	/	+	38,75	28,78	+	+m	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
387	Carpaccio mariné à l'huile	+	+	/	/	+	N/A	24,82	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
388	Steak haché à la tomate	-	-	+	+	+	35,64	33,41	+	+/-m	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
389	Steak haché	-	-	-	+	-	35,77	39,2	+	-	/	/	-	=	-	/	/	-	=	+m	+	+	+	PD	+	PD	
390	Haché frais pur bœuf	+	+	/	/	+	35,79	38,59	+	+m	A+x3	/	-	ND	+M	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+	=	
391	Faux filet	+	+	/	/	+	36,4	35,02	+	+p	+	+	+	=	+m	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
392	Gîte noix à bifteck	+	+	/	/	+	38,14	29,71	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
393	Bourguignon	+	+	/	/	+	36,74	30,2	+	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
394	Tranche à bifteck	+	+	+	+	+	35,8	37,05	+	+/-m	+	+	+	=	+1/2	+	+	+	=	+m	+	+	+	=	+	=	
395	Entrecôte	+	+	+	+	+	36,89	29,31	+	+1/2	+	+	+	=	+M	+	+	+	=	+p	+	+	+	=	+	=	
396	Tartare	+	+	-	-	+	35,85	37,02	+	+m	+	+	+	=	+1/2	+	+	+	=	+m	+	+	+	=	+	=	
589	Macreuse à braiser	-	-	-	-	-	34,46	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
590	Tartare de bœuf	-	-	-	+/-	-	34,6	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
591	Steak haché frais pur bœuf	-	-	-	-	-	33,62	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
592	Steak haché pur bœuf	-	-	-	-	-	34,05	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
593	Bifteks hachés pur bœuf	-	-	-	-	-	33,66	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
594	Steak haché surgelé	-	-	-	-	-	33,65	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
595	Tartare de bœuf	-	-	-	-	-	33,38	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
596	Boulettes à base de bœuf surgelées	-	-	-	-	-	33,71	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
597	Boulettes au bœuf surgelées	-	-	-	-	-	33,43	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
598	Boulettes au bœuf surgelées	-	-	-	-	-	34,04	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
599	Viande hachée fraîche pur bœuf surgelée	-	-	-	-	-	34,38	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	



p : culture pure du germe cible  
+/- : colonies douteuses

M : germe cible majoritaire  
ni : colonies non isolées

m : germe cible minoritaire  
A+ : souche auto-agglutinante

1/2 : 50 % du germe cible

N° Ech.	Produit	Méthode de référence ISO 16654♦				Résultat	Résultat PCR iQ (Extraction Prot.II)			Isolement direct					IMS								Toutes méthodes de confirmation confondues				
		Colonies suspectes					Résultat	HEX	FAM	Résultat	CT SMAC				CT SMAC				Rapid E.coli O157:H7				Résultat	Concordance			
		IMS 6H		IMS 24H							Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex		Résultat final	Concordance	Colonies suspectes	Latex			Résultat final	Concordance	
		CT SMAC	Chromagar O157	CT SMAC	Chromagar O157							O157	H7				O157	H7				O157					H7
600	Steak haché frais pur bœuf surgelé	-	-	-	+/-	-	33,39	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
601	Boulettes au bœuf surgelées	-	-	+/-	-	-	33,52	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
602	Steak haché frais pur bœuf	-	-	+	-	-	33,83	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
603	Haché bolognaise	-	-	+/-	+/-	-	33,64	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
604	Steak aux oignons surgelé	+	+	+	+	+	33,47	40,51	+	-	/	/	-	ND	+	+	+	+	=	+	+	+	+	=	+	=	
605	Viande hachée	-	-	-	+/-	-	33,9	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
606	Viande hachée surgelée	-	-	-	-	-	33,52	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
607	Steak haché pur bœuf surgelé	-	-	-	-	-	32,91	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
608	Boulettes au bœuf surgelées	-	-	-	-	-	33,91	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
609	Paleron à griller	-	-	-	-	-	33,23	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
610	Préparation viande bovine affinée	-	-	-	+/-	-	33,57	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
611	Carpaccio aux olives	-	-	-	-	-	33,3	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
612	Tournedos	-	-	-	-	-	33,4	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
613	Bavette	-	-	-	+/-	-	33,17	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
614	Viande bovine à bourguignon	-	-	-	-	-	32,95	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
615	Carpaccio pur bœuf	-	-	-	-	-	34,02	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
616	Steak haché frais	-	-	-	-	-	33,77	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
617	Steak haché frais	-	-	-	-	-	33,78	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
618	Carpaccio parmesan	-	-	-	-	-	33,66	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
619	Rond de gîte à biftek	-	-	-	-	-	32,9	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	
620	Tranche à biftek	-	-	-	-	-	33,57	N/A	-	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	/	/	/	-	=	-	=	

## Annexe 5 – Inclusivité et exclusivité : résultats bruts (Validation initiale – Juin 2008)

SOUCHES NEGATIVES								
1.	Genre/espèce	Sérotype	Identifiant souche	Origine	Taux d'inoculation ufc/225ml	Résultat PCR		
						HEX	FAM	Résultat
2.	<i>Escherichia coli</i>	O92:H33	JM221	Humaine Mexique	3,7.10 <sup>5</sup>	33,21	N/A	-
3.	<i>Escherichia coli</i>	O3:H2	38765	Humaine Chili	5,0.10 <sup>5</sup>	33,84	N/A	-
4.	<i>Escherichia coli</i>	O78:H11	H10407	ATCC 35401	2,5.10 <sup>5</sup>	33,45	N/A	-
5.	<i>Escherichia coli</i>	O6:H6	EDL1493	Inconnue	3,5.10 <sup>5</sup>	33,36	N/A	-
6.	<i>Escherichia coli</i>	O6:H10	ECOR10	Humaine Suède	4,2.10 <sup>5</sup>	33,12	N/A	-
7.	<i>Escherichia coli</i>	O111:H21	DEC6a	Humaine USA	3,2.10 <sup>5</sup>	33,34	N/A	-
8.	<i>Escherichia coli</i>	O86:H43	ECOR23	Animale (éléphant USA)	3,5.10 <sup>5</sup>	33,54	N/A	-
9.	<i>Escherichia coli</i>	O26:H11	DEC9a	Humaine USA	4,7.10 <sup>5</sup>	33,09	N/A	-
10.	<i>Escherichia coli</i>	O111:H8	DEC8b	Humaine USA	4,3.10 <sup>5</sup>	33,92	N/A	-
11.	<i>Escherichia coli</i>	O128:H2	DEC11a	Humaine USA	5,6.10 <sup>5</sup>	33,59	N/A	-
12.	<i>Escherichia coli</i>	O111:H2	DEC12a	Humaine UK	4,7.10 <sup>5</sup>	33,33	N/A	-
13.	<i>Escherichia coli</i>	O128:H7	DEC13a	Humaine USA	3,6.10 <sup>5</sup>	33,34	N/A	-
14.	<i>Escherichia coli</i>	O78:H12	TX-1	ATCC 43896	4,2.10 <sup>5</sup>	32,67	N/A	-
15.	<i>Escherichia coli</i>	O104:H21	ECOR26	Humaine USA	5,7.10 <sup>5</sup>	33,12	N/A	-
16.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H43	DEC7a	Animale (porc USA)	4,5.10 <sup>5</sup>	33,02	N/A	-
17.	<i>Escherichia coli</i>	O55:H7	DEC5d	Humaine Sri Lanka	4,6.10 <sup>5</sup>	33,54	N/A	-
18.	<i>Escherichia coli</i>	O44:H18	42	Humaine Pérou	5,6.10 <sup>5</sup>	33,02	N/A	-
19.	<i>Escherichia coli</i>	O127:H6	E2348/69	Humaine UK	5,5.10 <sup>5</sup>	33,25	N/A	-
20.	<i>Escherichia coli</i>	O55:H6	DEC1a	Humaine USA	4,5.10 <sup>5</sup>	33,43	N/A	-
21.	<i>Escherichia coli</i>	O18:K1:H7	RS218	Humaine	4,8.10 <sup>5</sup>	33,46	N/A	-
22.	<i>Salmonella</i>	Landau	Ad499	Inconnue	4,3.10 <sup>5</sup>	33,12	N/A	-
23.	<i>Salmonella</i>	Sternhauze	Ad500	Inconnue	2,6.10 <sup>5</sup>	34,03	N/A	-
24.	<i>Salmonella</i>	Urbana	Ad501	Inconnue	3,5.10 <sup>5</sup>	33,54	N/A	-
25.	<i>Salmonella</i>	Wayne	Ad502	Inconnue	3,6.10 <sup>5</sup>	33,3	N/A	-
26.	<i>Hafnia alvei</i>		88	Viennoiserie	4,6.10 <sup>5</sup>	33,83	N/A	-
27.	<i>Hafnia alvei</i>		167	Saucisse	4,5.10 <sup>5</sup>	34,59	N/A	-
28.	<i>Citrobacter freundii</i>		25	Epinars hachés surgelés	3,7.10 <sup>5</sup>	33,47	N/A	-
29.	<i>Citrobacter freundii</i>		104	Steak haché	6,2.10 <sup>5</sup>	34,61	N/A	-
30.	<i>Escherichia vulneris</i>		127	Lait cru	3,7.10 <sup>5</sup>	33,43	N/A	-
31.	<i>Pantoea spp.</i>		134	Foie de porc	5,5.10 <sup>4</sup>	33,98	N/A	-
32.	<i>Escherichia coli</i>	O157	Ad525	Fèces bovin	4,2.10 <sup>5</sup>	33,7	N/A	-
33.	<i>Escherichia coli</i>	O157-	Ad527	Clinique	5,3.10 <sup>5</sup>	33,52	N/A	-
34.	<i>Escherichia coli</i>	O157	Ad524	Environnement laitier	4,5.10 <sup>5</sup>	32,94	N/A	-
35.	<i>Escherichia coli</i>	O157	Ad526	Fèces bovin	7,4.10 <sup>5</sup>	34,01	N/A	-
36.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H-	01.12.903	Inconnue	70	33,42(8H)	N/A	-
						35,1(24H)	N/A	-
						32,72(8H)	N/A	-
						35,09(24H)	N/A	-

SOUCHES POSITIVES								
	Genre/espèce	Sérotype	Identifiant souche	Origine	Taux d'inoculation ufc/225ml	Résultat PCR		
						HEX	FAM	Résultat
1.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	B177	Environnement abattoir	51	30,96	27,62	+
2.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	BV2	Environnement abattoir	96	31,05	28,28	+
3.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	BR3	Environnement abattoir	73	30,73	28,47	+
4.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	BD4	Environnement abattoir	95	30,39	27,7	+
5.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	ENV177	STEP	85	30,71	28,53	+
6.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	ET8	STEP	132	30,46	27,99	+
7.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	EK9	STEP	117	30,53	26,51	+
8.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	435	Steak haché	73	31,18	28,82	+
9.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	670T	Steak haché	48	30,66	28,25	+
10.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	730T	Steak haché	71	30,7	27,02	+
11.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	226T	Steak haché	105	30,14	27,61	+
12.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	42197-1	Steak haché	98	30,61	27,18	+
13.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A3612	Steak haché	39	30,47	26,52	+
14.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A4513	Steak haché	74	30,89	26,65	+
15.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A1075	Steak haché	114	30,55	26,31	+
16.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	B68	Environnement abattoir	79	30,33	25,33	+
17.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AT40	Environnement abattoir	61	30,29	25,11	+
18.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AV36	Environnement abattoir	96	30,61	25,11	+
19.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AR15	Environnement abattoir	83	30,32	25,12	+
20.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	LS3	Selles	108	30,55	25,61	+
21.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AMVT6	Selles	81	30,02	24,57	+
22.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	ATKP8	Selles	105	30,24	25,01	+
23.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AZRS15	Selles	111	30,16	25,22	+
24.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	R33-9	Fèces bovin	79	29,82	25,07	+
25.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AZ15-6	Fèces bovin	87	30,38	26,27	+
26.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AQ29-4	Fèces bovin	150	31,02	25,02	+
27.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AA18-3	Fèces bovin	84	30,45	25,51	+
28.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	LS56	Selles	155	30,63	24,47	+
29.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A425TK	Selles	116	30,11	24,92	+
30.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A206RP	Selles	87	30,49	24,4	+
31.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A778EF	Selles	169	38,33	21,66	+
32.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	MK41242	Steak haché	163	37,6	22,36	+
33.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AMK2608	Steak haché	101	37,44	21,88	+
34.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AMK1506	Steak haché	148	36,95	21,7	+
35.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	AMK1311	Steak haché	149	36,65	21,87	+
36.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	37006ID	Steak haché	183	38,35	21,36	+
37.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A1518ID	Steak haché	110	35,25	23,09	+
38.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A1512ID	Steak haché	66	37,83	23,6	+
39.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A1814ID	Steak haché	57	39,63	23,36	+
40.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	A1989ID	Steak haché	88	37,13	22,94	+
41.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	EF190	Fèces	76	36,55	23,29	+
42.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad686	Abattoir bovin	5	N/A	19,42	+
43.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	CIP103571 (ATCC 35150)	Clinique	91	36,67	22,59	+
44.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	ATCC 43888	Inconnue	102	36,38	23,52	+
45.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad485	Steak haché	66	37,09	23,98	+
46.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad486	Steak haché	73	36,08	25,67	+
47.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad487	Steak haché	65	37,08	23,33	+
48.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad488	Steak haché	81	39,34	22,19	+
49.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	Ad489	Steak haché	71	36,84	23,22	+
50.	<i>Escherichia coli</i>	O157:H7	ATCC 700728	Inconnue	73	36,25	24,02	+

## Annexe 6 – Calcul du degré d'accord (Validation initiale – Juin 2008)

## ☐ Résultats de 13 laboratoires

## Méthode de référence

Niveau L0							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	0	0	0	8	1	1	1
B	1	0,125	0,015625	7	0,875	0,765625	0,78125
C	0	0	0	8	1	1	1
D	0	0	0	8	1	1	1
E	0	0	0	8	1	1	1
G	0	0	0	8	1	1	1
H	0	0	0	8	1	1	1
I	0	0	0	8	1	1	1
J	0	0	0	8	1	1	1
K	3	0,375	0,140625	5	0,625	0,390625	0,53125
L	4	0,5	0,25	4	0,5	0,25	0,5
M	0	0	0	8	1	1	1
N	0	0	0	8	1	1	1
Moyenne							0,908653846
Degré d'accord							91%

## Méthode alternative

Niveau L0							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	0	0	0	8	1	1	1
B	1	0,125	0,015625	7	0,875	0,765625	0,78125
C	0	0	0	8	1	1	1
D	0	0	0	8	1	1	1
E	0	0	0	8	1	1	1
G	0	0	0	8	1	1	1
H	0	0	0	8	1	1	1
I	0	0	0	8	1	1	1
J	0	0	0	8	1	1	1
K	2	0,25	0,0625	6	0,75	0,5625	0,625
L	0	0	0	8	1	1	1
M	0	0	0	8	1	1	1
N	0	0	0	8	1	1	1
Moyenne							0,954326923
Degré d'accord							95%

Niveau L1							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
B	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	7	0,875	0,765625	1	0,125	0,015625	0,78125
J	6	0,75	0,5625	2	0,25	0,0625	0,625
K	8	1	1	0	0	0	1
L	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							0,954326923
Degré d'accord							95%

Niveau L1							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
B	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
K	8	1	1	0	0	0	1
L	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

Niveau L2							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
B	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
K	8	1	1	0	0	0	1
L	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

Niveau L2							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
B	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
K	8	1	1	0	0	0	1
L	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

## ☐ Résultats de 10 laboratoires

### Méthode de référence

Niveau L0							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	0	0	0	8	1	1	1
C	0	0	0	8	1	1	1
D	0	0	0	8	1	1	1
E	0	0	0	8	1	1	1
G	0	0	0	8	1	1	1
H	0	0	0	8	1	1	1
I	0	0	0	8	1	1	1
J	0	0	0	8	1	1	1
M	0	0	0	8	1	1	1
N	0	0	0	8	1	1	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

Niveau L1							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	7	0,875	0,765625	1	0,125	0,015625	0,78125
J	6	0,75	0,5625	2	0,25	0,0625	0,625
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							0,940625
Degré d'accord							94%

Niveau L2							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

### Méthode alternative

Niveau L0							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	0	0	0	8	1	1	1
C	0	0	0	8	1	1	1
D	0	0	0	8	1	1	1
E	0	0	0	8	1	1	1
G	0	0	0	8	1	1	1
H	0	0	0	8	1	1	1
I	0	0	0	8	1	1	1
J	0	0	0	8	1	1	1
M	0	0	0	8	1	1	1
N	0	0	0	8	1	1	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

Niveau L1							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

Niveau L2							
Laboratoire	Nombre de positifs obtenus	Probabilité de positifs	Probabilité de paires de positifs	Nombre de négatifs obtenus	Probabilité de négatifs	Probabilité de paires de négatifs	Probabilité de paires de résultats identiques
A	8	1	1	0	0	0	1
C	8	1	1	0	0	0	1
D	8	1	1	0	0	0	1
E	8	1	1	0	0	0	1
G	8	1	1	0	0	0	1
H	8	1	1	0	0	0	1
I	8	1	1	0	0	0	1
J	8	1	1	0	0	0	1
M	8	1	1	0	0	0	1
N	8	1	1	0	0	0	1
Moyenne							1
Degré d'accord							100%

## Annexe 7 - Calcul de la concordance (Validation initiale – Juin 2008)

## ☐ Résultats de 13 laboratoires

## Méthode de référence

## Niveau LO

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats négatifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de négatifs	Paires Inte-laboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	704	768
B	7	630	768
C	8	704	768
D	8	704	768
E	8	704	768
G	8	704	768
H	8	704	768
I	8	704	768
J	8	704	768
K	5	470	768
L	4	384	768
M	8	704	768
N	8	704	768
<b>Total</b>		<b>8 524</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>85,4%</b>

Total + 8

Total - 96

## Méthode alternative

## Niveau LO

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats négatifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de négatifs	Paires Interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	704	768
B	7	630	768
C	8	704	768
D	8	704	768
E	8	704	768
G	8	704	768
H	8	704	768
I	8	704	768
J	8	704	768
K	6	552	768
L	8	704	768
M	8	704	768
N	8	704	768
<b>Total</b>		<b>8 926</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>89,4%</b>

Total + 3

Total - 101

## Niveau L1

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	744	768
B	8	744	768
C	8	744	768
D	8	744	768
E	8	744	768
G	8	744	768
H	8	744	768
I	7	660	768
J	6	572	768
K	8	744	768
L	8	744	768
M	8	744	768
N	8	744	768
<b>Total</b>		<b>9 416</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>94,3%</b>

Total + 101

Total - 3

## Niveau L1

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	768	768
B	8	768	768
C	8	768	768
D	8	768	768
E	8	768	768
G	8	768	768
H	8	768	768
I	8	768	768
J	8	768	768
K	8	768	768
L	8	768	768
M	8	768	768
N	8	768	768
<b>Total</b>		<b>9 984</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>100,0%</b>

Total + 104

Total - 0

## Niveau L2

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	768	768
B	8	768	768
C	8	768	768
D	8	768	768
E	8	768	768
G	8	768	768
H	8	768	768
I	8	768	768
J	8	768	768
K	8	768	768
L	8	768	768
M	8	768	768
N	8	768	768
<b>Total</b>		<b>9 984</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>100,0%</b>

Total + 104

Total - 0

## Niveau L2

Nombre de laboratoires 13

Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Interlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	768	768
B	8	768	768
C	8	768	768
D	8	768	768
E	8	768	768
G	8	768	768
H	8	768	768
I	8	768	768
J	8	768	768
K	8	768	768
L	8	768	768
M	8	768	768
N	8	768	768
<b>Total</b>		<b>9 984</b>	<b>9 984</b>
<b>Concordance</b>			<b>100,0%</b>

Total + 104

Total - 0

## ☐ Résultats de 10 laboratoires

### Méthode de référence

#### Niveau LO

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats négatifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de négatifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	576	576
C	8	576	576
D	8	576	576
E	8	576	576
G	8	576	576
H	8	576	576
I	8	576	576
J	8	576	576
M	8	576	576
N	8	576	576
<b>Total</b>		<b>5 760</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>100,0%</b>	
<b>Total +</b>	<b>0</b>		
<b>Total -</b>	<b>80</b>		

#### Niveau L1

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	552	576
C	8	552	576
D	8	552	576
E	8	552	576
G	8	552	576
H	8	552	576
I	7	492	576
J	6	428	576
M	8	552	576
N	8	552	576
<b>Total</b>		<b>5 336</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>92,6%</b>	
<b>Total +</b>	<b>77</b>		
<b>Total -</b>	<b>3</b>		

#### Niveau L2

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	576	576
C	8	576	576
D	8	576	576
E	8	576	576
G	8	576	576
H	8	576	576
I	8	576	576
J	8	576	576
M	8	576	576
N	8	576	576
<b>Total</b>		<b>5 760</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>100,0%</b>	
<b>Total +</b>	<b>80</b>		
<b>Total -</b>	<b>0</b>		

### Méthode alternative

#### Niveau LO

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats négatifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de négatifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	576	576
C	8	576	576
D	8	576	576
E	8	576	576
G	8	576	576
H	8	576	576
I	8	576	576
J	8	576	576
M	8	576	576
N	8	576	576
<b>Total</b>		<b>5 760</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>100,0%</b>	
<b>Total +</b>	<b>0</b>		
<b>Total -</b>	<b>80</b>		

#### Niveau L1

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	576	576
C	8	576	576
D	8	576	576
E	8	576	576
G	8	576	576
H	8	576	576
I	8	576	576
J	8	576	576
M	8	576	576
N	8	576	576
<b>Total</b>		<b>5 760</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>100,0%</b>	
<b>Total +</b>	<b>80</b>		
<b>Total -</b>	<b>0</b>		

#### Niveau L2

Nombre de laboratoires **10**  
 Nombre de résultats positifs par laboratoire: 8

Laboratoire	Nombre de positifs	Paires Inte-rlaboratoires avec le même résultat	Nombre total de paires interlaboratoires
A	8	576	576
C	8	576	576
D	8	576	576
E	8	576	576
G	8	576	576
H	8	576	576
I	8	576	576
J	8	576	576
M	8	576	576
N	8	576	576
<b>Total</b>		<b>5 760</b>	<b>5 760</b>
<b>Concordance</b>		<b>100,0%</b>	
<b>Total +</b>	<b>80</b>		
<b>Total -</b>	<b>0</b>		