

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

Faculté des Sciences
et Techniques
(FST)



Année : 2009

Ecole Inter-Etats
des Sciences et Médecine
Vétérinaires (EISMV)



N° : 29

EVALUATION DES COMPOSANTES DE L'INCERTITUDE DES RÉSULTATS D'ANALYSE D'UN LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE ALIMENTAIRE Cas du laboratoire HIDAOA de l'EISMV de Dakar

MEMOIRE DE DIPLOME DE MASTER II

Présenté et soutenu publiquement le **07 Décembre 2009 à 09 heures**
A l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar
Pour obtenir le diplôme de **Master II: Qualité des Aliments de l'Homme**

Par :

Eugène NIYONZIMA

Né le 26 Mai 1982 à Kigali (Rwanda)

Jury

Président : **M. Louis Joseph PANGUI**
Professeur à l'EISMV de Dakar

Directeur de recherche : **M. Malang SEYDI**
Professeur à l'EISMV de Dakar

Membres: **M. Bhen Sikina TOGUEBAYE**
Professeur à la FST à l'UCAD

M. Germain J. SAWADOGO
Professeur à l'EISMV de Dakar

Co-directeurs: **Mme Rianatou Bada ALAMBEDI**
Professeur à l'EISMV de Dakar

M. Khalifa Babacar SYLLA
Responsable qualité du laboratoire HIDAOA de l'EISMV

RÉSUMÉ

Ce travail porte sur l'évaluation des composantes de l'incertitude de mesure des résultats d'analyse du laboratoire de microbiologie alimentaire HIDAOA de l'Ecole inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. Il vise à identifier les composantes de l'incertitude et à estimer cette dernière dans un but d'accréditation ISO 17025/2005 par le COFRAC.

La recherche et le dénombrement de cinq germes : la Flore mésophile aérobie totale(FMAT), les coliformes thermotolérants(CTT), les staphylocoques présumés pathogènes (SPP) , les bactéries anaérobies sulfito-réductrices(ASR) et les salmonelles dans 100 échantillons d'aliments groupés en 4 matrices (lait en poudre, viande de buffle, foie de bœuf et filets de poissons congelés) ont été réalisés selon les méthodes normalisées française et ont permis la détermination des composantes de l'incertitude de mesure et son estimation selon la norme ISO 19036/2006.

Une variabilité de l'incertitude de mesure a été observée entre différentes matrices et au sein d'une même matrice en fonction de la microflore recherchée. Les filets de poissons congelés ont donné les valeurs d'IM les plus élevées, suivi de la viande de buffle et le foie de bœuf et enfin la poudre de lait. Cette variation est imputable à la nature physique de la matrice et à l'hétérogénéité de sa contamination. Dans chacune des quatre (04) matrices une variation de l'IM en fonction du germe a été observée. En effet, les SPP ont donné les plus forte valeurs d'IM, suivi de la FMAT et les CTT et enfin les ASR. Cette variabilité est imputable à la méthode d'analyse variable en fonction du germe, et à l'opérateur.

Bien que les valeurs d'incertitude de mesure obtenues au cours de notre travail soient relativement faibles (la plus forte des incertitudes s'élève à 0,183 (\log_{10}) ufc/g soit 1,52 ufc/g de produit), le souci d'une amélioration continue axée sur une veille normative et technologique et une formation régulière aux bonnes pratiques de laboratoire reste primordial, d'autant plus qu'il n'existe pas encore des valeurs de référence des incertitudes de mesure en microbiologie alimentaire

Mots clés :

Incertitude de mesure, laboratoire, microbiologie alimentaire, résultats d'analyse.

ABSTRACT

This study focuses on the evaluation of the measurement uncertainty component of analytical results of the food microbiology laboratory HIDAOA of the Inter-state School of Sciences and Veterinary Medicine of Dakar. It aims to identify the components of uncertainty and estimate the latter for purposes of ISO 17025/2005 accreditation by COFRAC.

The detection and enumeration of five (05) germs :The Total Aerobic Mesophilic Flora (TAMF), Thermotolerant Coliforms (TTC), Presumed Pathogenic Staphylococci (PPS), the anaerobic sulfite-reducing bacteria (ASR) and Salmonella) in 100 food samples grouped into 4 matrices (milk powder, buffalo meat, beef liver and fish fillets) done under standardized methods helped to identify the components of measurement uncertainty (MU) and its estimate according to ISO 19036/2006 standard.

Variability of measurement uncertainty was observed between different matrices and within a matrix depending on the desired microflora. The fish fillets were given the highest values of measurement uncertainty, followed by buffalo meat and beef liver and finally powdered milk. This variation is due to the physical nature of the matrix and the heterogeneity of its contamination. In each of four matrices a variation of measurement uncertainty depending on the germe has been observed. The PPS gave the highest values of measurement uncertainty, followed by TMAF and TTC and finally the ASR. This variability is attributable to the method of analysis varies depending on the germ, and to the operator.

Although the values of measurement uncertainty obtained in our work are relatively low (the largest uncertainty is 0.183 (\log_{10}) CFU / g or 1.52 cfu / g product), the aim of improving Continuing focus on normative and watch technology and regular training to good laboratory practice is essential, especially since it is still not baseline measurement uncertainty in food microbiology.

Keywords:

Uncertainty of measurement, laboratory, food microbiology, analytical results.

DEDICACES

A Dieu, l'éternel tout puissant, merci Seigneur de m'avoir comblé de ta grâce et de tes biens faits.

A mon père, Papias MUKURALINDA. Votre intelligence et votre rigueur ont permis d'inculquer à vos enfants une éducation exemplaire. Votre sens élevé du devoir et votre probité morale sont et seront toujours pour moi une référence. Vos sacrifices ne seront pas vains. Trouvez dans ce travail l'expression de ma gratitude.

A mère, Espérance NZABAMWITA, Je ne trouverai jamais les mots qu'il faut pour exprimer tout mon, ma reconnaissance et ma profonde gratitude pour les sacrifices consentis. Vos prières et votre confiance m'ont toujours donné la force et le courage de persévérer dans le travail. Vous m'avez appris que le meilleur héritage est l'éducation et que toute réussite déguise une abdication. Puisse ce travail être pour vous le début de la reconnaissance de vos efforts et le gage de ma profonde affection.

A mes frères et sœurs Egide, Evariste, Daniel, Noli, Vestine et Claudine. Ce travail est le vôtre. Il est le fruit de vos sacrifices et privations. Soyez assurés de ma profonde reconnaissance. Soyons unis pour être plus forts.

A mon neveu HIRWA et mes nièces Lora, Cynthia, Sandra que ce travail soit pour vous un exemple. Visez toujours plus haut et faites mieux que moi.

A la communauté des Servants de Messe de la Centrale Don Bosco, Merci pour votre soutien et vos prières. Malgré la distance vous êtes restés proche de moi. Soyez rassuré de ma profonde gratitude.

A mes amis Mwenedata, Enock, Safari, Jean Marie, Rukundo, Fabrice, Jean Pierre, Pascal, Daniel, Nepo, Oscar, Omar, Ayabagabo, Richard, Célestin, Byishimo, Chantal, Fausta, Rosine, Solange en souvenir des moments agréables que nous avons passé ensemble. Recevez le témoignage de toute mon affection

A l'Amicale des Etudiants Vétérinaires de Dakar (AEVD),

Au Rwanda ma chère patrie et au Sénégal mon pays hôte !

REMERCIEMENTS

A Monsieur **Louis Joseph PANGUI**, Professeur et Directeur de l'Ecole Inter-Etats Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar. C'est un grand privilège que vous nous faites en présidant notre jury de mémoire. Soyez rassuré de notre profonde reconnaissance et recevez nos sincères remerciements.

A Monsieur **Malang SEYDI**, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar. Vous avez suivi et encadré ce travail avec rigueur scientifique, malgré vos multiples occupations. Le temps passé à vos côtés nous a permis de bénéficier de vos immenses qualités intellectuelles. Veuillez trouver ici, l'expression de notre très grande gratitude et nos remerciements les plus sincères.

A Monsieur **Germain Jérôme SAWADOGO**, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar et coordonateur des stages et de la formation postuniversitaires. Nous avons été fascinés par votre abord facile et votre simplicité. Vos qualités scientifiques et humaines nous ont profondément marqué. Veuillez accepter nos hommages respectueux.

A Monsieur **Bhen Sikina TOGUEBAYE**, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de l'UCAD. Vous nous a faites un grand honneur d'accepter de faire partie de ce jury malgré vos nombreuses occupations. Veuillez trouver ici, l'expression de nos sincères remerciements et de notre profonde gratitude.

A Madame **Rianatou Bada ALAMBEDJI**, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar et chef de Service d'Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAOA). Vous nous avez permis de réaliser nos premiers pas dans votre service. Puisse ce travail être l'occasion de vous exprimer notre respect et notre gratitude.

A Monsieur **Khalifa Babacar SYLLA**, Assistant à l'EISMV de Dakar et responsable qualité du laboratoire HIDAOA de l'EISMV. Vous nous avez fait l'honneur de nous proposer ce travail, vous l'avez dirigé et suivi avec rigueur scientifique. Votre abord facile et votre simplicité nous ont profondément marqué. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A tous les enseignants de l'EISMV, Merci pour toutes ces connaissances que nous avons acquis à vos cotés. Que Dieu vous accorde une logue vie.

A Madame **DIEYE**, Vous avez été pour nous une mère au sein du Service d'HIDAOA. Vos précieux conseils nous accompagnerons éternellement.

A Madame **MAR**, Merci pour votre soutien inconditionnel

A tout le personnel du laboratoire HIDAOA de l'EISMV, en particulier **Mr NALLA**, **Mr KONE** et **BALDE**. Merci pour votre disponibilité.

A tous mes promotionnels du Master qualité des Aliments : David, Hamadou, Samba, Abessolo, Nathalie, Meissa et Samba.

A mes frères et sœurs en Christ de la Chorale Sainte Catherine de Sienne, vous avoir autour de moi a été la meilleure chose qui me soit arrivée. Que Dieu vous bénisse et vous protège.

A la Cellule des Etudiants Vétérinaires Catholiques (CEVEC), pour votre soutien moral et spirituel. Vous avez été ma nouvelle famille au sein de l'Ecole Vétérinaire. Que Dieu vous accorde toutes ses grâces.

A Bertrand MVE ONDO et Parfait, Merci pour tout.

A tous mes amis de l'EISMV, je ne pourrai les citer de peur d'en oublier un, pour votre disponibilité et votre compréhension.

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réussite de ce travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

- °C. : Degré Celsius
- CEI.**: Commission Electrotechnique Internationale
- CTT** : Coliformes thermotolérants
- COFRAC.**: Comité Français d'Accréditation
- DPM.**: Direction des Pêches Maritimes
- E.I.S.M.V.**: Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires
- EN.**: European Norm
- ETR**: Ecart type de reproductibilité
- FMAT** : Flore mésophile aérobie totale
- g.** : Gramme
- H.I.D.A.O.A.**: Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale
- IM.**: Incertitude de mesure
- ISO.**: International Standards Organization
- Km**: Kilomètre
- Log₁₀** : logarithme de base 10
- ml.** Millilitre
- ND** : Nom Déposé
- NF.**: Norme Française
- RAEMA.**: Réseau d'Analyse et d'Echanges en Microbiologie des Aliments
- Salm.** : Salmonelles
- SPP** : Staphylocoques présumés pathogènes
- TS.**: Technical Specification
- ufc.** : Unités formant colonies

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Germes recherchés et Méthodes d'analyse utilisées	13
Tableau II. Composantes de l'incertitude	17
Tableau III. Ecart types de reproductibilité pour les matrices ciblées.....	17

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Diagramme des principales sources d'incertitude en microbiologie des aliments, et approche « boîte noire » de l'incertitude de mesure.	14
Figure 2. Protocole expérimental pour l'écart type de reproductibilité	15
Figure 3. La croissance bactérienne au cours de l'incubation.....	20
Figure 4. Variabilité intra-matricielle de l'Ecart-type de reproductibilité	23
Figure 5. Variabilité inter-matricielle de l'Ecart-type de reproductibilité	24

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
Première partie: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	1
Chapitre I. PRÉSENTATION DU RÉFÉRENTIEL.....	2
La norme ISO/CEI 17025 :2005	2
I.1. Définition	2
I.2.Exigences de la Norme ISO/CEI 17025.....	2
I.2.1. Exigences relatives au management.....	2
I.2.2. Exigences techniques.....	3
1.2.2.1. Exigences relatives au personnel.....	3
1.2.2.2. Exigences relatives aux équipements.....	3
1.2.2.3. Exigences relatives aux méthodes.....	4
1.2.2.4. Estimation de l'incertitude de mesure.....	5
Chapitre II. INCERTITUDE DE MESURE D'UN RÉSULTAT D'ANALYSE	6
II.1. Définition	6
II.2. Classification des Incertitudes de mesure.....	7
II.2.1. Incertitude de type A	7
II.2.2. Incertitude de type B	7
II.2.3. Incertitude composée.....	8
II.2.4. Incertitude élargie.....	8
II.3. Sources de l'incertitude de Mesure.....	9
II.3.1. Equipements	9
II.3.1.1. Milieux de culture et réactifs	9
II.3.1.2. Appareils.....	9

II.3.2. Méthodes	10
II.3.3. Operateur	10
Deuxième partie. :ÉTUDE EXPÉRIMENTALE	11
Chapitre I.:MATÉRIEL ET MÉTHODES	11
I.1. Milieu d'étude	11
I.2. Période d'étude.....	11
I.3. Matériel	12
I.3.1. Echantillons d'analyse.....	12
I.3.2. Matériel technique	12
I.4. Méthodes	12
I.4.1. Détermination des composantes de l'incertitude de mesure	13
I.4.2. Estimation de l'incertitude de mesure	14
1.4.2.1. Protocole expérimental.....	14
1.4.2.2. Expression des résultats	15
Chapitre II.: RÉSULTATS ET DISCUSSION	16
II.1. Résultats.....	16
II.1.1. Détermination des composantes de l'incertitude de mesure	16
II.1.2. Estimation de l'incertitude de mesure	16
II.2. Discussion	18
II.2.1. Composantes d'incertitude.....	18
II.2.1.1 Préparation et conservation des milieux de culture	18
II.2.1.2. Préparation de l'échantillon.....	18
II.2.1.3. Pesée de la prise d'essai.....	18
II.2.1.4. Temps de broyage et de revivification	19
II.2.1.5. Diluant et nombre de dilutions décimales	19
II.2.1.6. Pipetage de la prise d'essai.....	20

II.2.1.7. Température et durée de l'incubation	20
II.2.1.8. Comptage des colonies	21
II.2.1.9. Identification des colonies	21
II.2.1.10. Qualité et condition de stockage des consommables.....	22
II.2.2. Incertitudes estimées des résultats d'analyses.....	22
II.2.2.1. Variabilité intra-matricielle	22
II.2.2.2. Variabilité inter-matricielle	23
Chapitre III.: RECOMMANDATIONS	26
III.1. Maîtrise de l'IM liée à la méthode d'analyse	26
III.2. Maîtrise de l'IM liée aux équipements d'analyse.....	26
III.3. Maîtrise de l'IM lié à l'opérateur	27
CONCLUSION	28
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	29

INTRODUCTION

Depuis les temps immémoriaux, la satisfaction quantitative et qualitative des besoins alimentaires à été le souci majeur de différentes populations du monde.

Au Sénégal, comme dans la plupart des pays en voie de développement, la démographie sans cesse croissante s'accompagne d'une augmentation de la demande en aliments et une recrudescence des maladies liées au non respect des règles de l'hygiène. L'OMS estime en effet à deux (02) millions [30], le nombre d'enfants qui meurent chaque année des affections diarrhéiques provoquées par l'eau ou les aliments. Même dans les pays industrialisés, le tiers de la population contracte chaque année l'une de ces affections avec un taux de mortalité atteignant 20 par million. Le contrôle de la qualité des denrées alimentaires par des laboratoires agréés, s'avère alors indispensable. Il permet d'une part la protection de la santé des consommateurs et d'autre part l'amélioration de la compétitivité des produits alimentaires sur le marché international.

Le laboratoire HIDAOA de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) de Dakar contribue à la maîtrise de la sécurité sanitaire des denrées alimentaires, par l'analyse microbiologique des produits importés destinés à la consommation locale mais aussi les analyses d'autocontrôles de différentes industries agro-alimentaires à vocation exportatrice. Dans le but de satisfaire « *le client* » en fournissant des résultats d'analyse scientifiquement fiables, le laboratoire a mis en place un système d'assurance qualité et prépare une accréditation par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) selon le référentiel ISO/CEI 17025:2005. L'une des exigences techniques de ce référentiel est l'estimation de l'incertitude de mesure des résultats d'analyses.

L'objectif général de ce travail est d'évaluer les composantes de l'incertitude de mesure des résultats d'analyse du laboratoire HIDAOA de l'EISMV de Dakar. Il s'agira spécifiquement, d'identifier les sources d'incertitude de mesure de différentes analyses microbiologiques effectuées par ledit laboratoire et d'estimer cette incertitude selon le référentiel ISO 19036:2006.

Ce travail comporte deux (02) parties : une synthèse bibliographique comprenant la présentation du référentiel et les généralités sur l'incertitude de mesure ; et une partie expérimentale comprenant la méthodologie de recherche, les résultats, la discussion et les recommandations.

Première partie
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I.

PRÉSENTATION DU RÉFÉRENTIEL

La norme ISO/CEI 17025 :2005

I.1. Définition

La norme ISO/CEI 17025:2005 est l'une des normes de l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) et de la Commission Electrotechnique Internationale (CEI). Elle traite des prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essai. Cette norme s'applique à tous les types de laboratoires quel que soit le domaine d'application. Elle est destinée à être utilisée par les laboratoires qui élaborent leur système de management pour la qualité et les activités administratives et techniques. Elle peut également être utilisée par les clients des laboratoires, les autorités réglementaires et les organismes d'accréditation engagés dans des activités de confirmation ou de reconnaissance de la compétence des laboratoires [28].

I.2.Exigences de la Norme ISO/CEI 17025

La norme ISO/CEI 17025:2005 comporte deux (02) types d'exigences : Les exigences relatives au management et les exigences techniques.

I.2.1. Exigences relatives au management

Les exigences de la norme ISO/CEI 17025:2005 relatives au management rappellent celles de la norme ISO 9001:2000 concernant les exigences du système de management de la qualité. Elles s'articulent sur les 8 principes du management de la qualité : l'orientation client, le leadership, l'implication du personnel, l'approche processus, l'approche système, l'amélioration continue, l'approche factuelle pour la prise de décisions et les relations mutuellement bénéfiques avec les fournisseurs [17], [19].

La norme ISO/CEI 17025:2005 permet la mise en cohérence des exigences relatives au Système qualité des laboratoires avec celles des normes internationales comme la NF EN ISO 9001:2000 [9].

Cependant, il convient de rappeler que la certification ISO 9001:2000 ne constitue pas en soi la preuve de la compétence du laboratoire à produire des données et des résultats techniquement valables, car les compétences techniques ne sont pas traitées dans cette norme [19], [22].

1.2.2. Exigences techniques

Les exigences techniques de l'ISO 17025:2005 concernent des facteurs déterminant l'exactitude et la fiabilité des essais et/ou étalonnages effectués par le laboratoire. Nous citerons entre autres : le personnel, des équipements et des méthodes.

1.2.2.1. Exigences relatives au personnel

Pour garantir la fiabilité des résultats d'analyse, la direction du laboratoire doit assurer la compétence de tous : ceux qui assurent le fonctionnement des appareils spécifiques, ceux qui effectuent des essais et/ou étalonnages et ceux qui évaluent les résultats et signent les rapports d'essais et les certificats d'étalonnage. Pour ce faire, elle doit formuler les objectifs en ce qui concerne l'éducation, la formation et les compétences du personnel de laboratoire et établir un programme et un plan de formation correspondant aux tâches actuelles et futures prévisibles du laboratoire [19]. Si le laboratoire doit avoir recours à des collaborateurs extérieurs, il doit s'assurer que ceux-ci travaillent conformément à son système qualité. Le laboratoire doit en effet, tenir à jour les descriptions des fonctions pour le personnel d'encadrement, le personnel technique et le personnel de soutien en position clé participant aux essais [19]. Le laboratoire doit enfin tenir les enregistrements des preuves de compétences de tout le personnel technique y compris le personnel sous contrat. Ces enregistrements doivent être faciles d'accès et inclure la date de confirmation de la compétence [9], [20].

1.2.2.2. Exigences relatives aux équipements

Le laboratoire doit être équipé de tous les éléments pour les échantillonnages, les mesurages et les essais exigés pour une exécution correcte des essais et/ou étalonnages [19]. L'équipement et le logiciel correspondant doivent permettre d'obtenir l'exactitude requise. Ils doivent être conformes aux spécifications pertinentes pour les essais et/ou des étalonnages en question. A cet effet, des programmes d'étalonnage doivent être établis.

Avant d'être mis en service, les équipements doivent être étalonnés et vérifiés pour établir qu'ils répondent aux exigences spécifiées du laboratoire et qu'ils sont conformes aux spécifications normatives pertinentes. Ils doivent également être utilisés par un personnel autorisé [19]. Des instructions mis à jour concernant l'utilisation et l'entretien des équipements doivent être facilement accessibles au personnel approprié du laboratoire.

De même, des procédures pour la manutention sûre, le transport, le stockage, l'utilisation et la maintenance des appareils de mesure doivent être établies pour leur fonctionnement correct et la prévention de toute détérioration. Un équipement défectueux doit être mis hors service et porter un renseignement pour éviter son utilisation future. Les effets de la défaillance ou de l'écart par rapport aux limites spécifiées sur l'essai antérieur doivent être examinés par le laboratoire, afin d'établir la procédure de «maîtrise des travaux non-conformes» [19].

1.2.2.3. Exigences relatives aux méthodes

En général, le laboratoire doit appliquer des méthodes et des procédures appropriées pour tous les essais et/ou étalonnages relevant de son domaine d'activité. Concernant la sélection des méthodes, le laboratoire doit s'assurer qu'il utilise la dernière édition de la norme sauf si cela n'est pas approprié ou impossible. Lorsque le client ne spécifie pas la méthode à utiliser, le laboratoire est tenu de sélectionner la méthode appropriée et l'informer. Par contre, si le client propose une méthode jugée inappropriée ou périmée, le laboratoire doit le lui indiquer. [19].

L'introduction des méthodes d'essai et d'étalonnage développées par le laboratoire à son propre usage doit être une activité planifiée, et confiée à un personnel qualifié. Lorsque le recours à des méthodes qui ne sont pas normalisées est nécessaire, ces méthodes doivent faire l'objet d'un accord préalable avec le client. La méthode élaborée doit avoir été dûment validée avant l'emploi. La validation d'une méthode est la confirmation par examen et l'apport des preuves objectives, du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue, déterminée sont remplies [19].

Le laboratoire doit en effet valider les méthodes non-normalisées, les méthodes conçues et développées par le laboratoire, les méthodes normalisées utilisées en dehors de leur domaine d'application prévu et les amplifications ou modifications des méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu.

1.2.2.4. Estimation de l'incertitude de mesure

L'estimation de l'incertitude de mesure est l'une des exigences majeures de la norme ISO/CEI 17025:2005 [19]. La dernière version de ladite norme n'inclut pas de nouvelles exigences concernant l'incertitude de mesure, mais traite de ce sujet plus en détail que dans la version précédente de cette norme [27].

A ce sujet la norme stipule que les laboratoires d'essai et/ou étalonnage doivent posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux métrologiquement et statistiquement valable de l'incertitude. Dans de tels cas, le laboratoire doit au moins, tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode dans le domaine de la mesure et faire appel, par exemple à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures. L'estimation de l'incertitude doit prendre en compte, en utilisant des méthodes d'analyses appropriées, toutes les composantes de l'incertitude qui ont une importance dans la situation donnée [19].

Chapitre II

INCERTITUDE DE MESURE D'UN RÉSULTAT D'ANALYSE

II.1. Définition

Selon la norme ISO/TS 19036:2006 [11], l'incertitude de mesure (IM) correspond au paramètre associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande. L'IM peut être un écart-type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé.

Il est important de faire la distinction entre l'erreur et l'incertitude. L'erreur [27] est définie comme étant la différence entre un résultat individuel et la valeur exacte ou la valeur vraie du mesurande. En tant que telle, l'erreur est une valeur unique. En principe la valeur d'une erreur connue peut être appliquée comme correction du résultat. L'incertitude quant à elle, prend la forme d'un intervalle et, si elle est estimée pour une procédure analytique et un type particulier d'échantillon, elle peut s'appliquer à toutes les déterminations décrites de cette façon. En général, la valeur de l'incertitude ne peut pas être utilisée pour corriger le résultat d'une mesure. Pour illustrer encore la différence, le résultat d'une analyse après correction peut être « par chance » très proche de la valeur du mesurande et de ce fait être affecté d'une erreur négligeable. Toutefois, l'incertitude peut demeurer très grande par le simple fait que l'analyste n'a pas de certitude sur le degré de proximité entre le résultat et cette valeur. L'incertitude du résultat d'une mesure ne devrait jamais être interprétée comme représentant l'erreur elle-même ni l'erreur subsistant après correction [27].

L'incertitude de mesure comprend en général plusieurs composantes. Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique d'une série de mesurages. Elles peuvent être caractérisées par des écarts-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écarts-types, sont évaluées en admettant des lois de probabilité d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations

II.2. Classification des Incertitudes de mesure

Les incertitudes associées aux résultats d'un mesurage peuvent être regroupées en deux catégories en fonction des méthodes utilisées, pour estimer leur valeur numérique : L'incertitude de type A et l'incertitude de type B.

II.2.1. Incertitude de type A

L'incertitude de type A notée $u_A(G)$ est une incertitude de mesure évaluée par des méthodes statistiques [III]. L'opérateur réalise une série de mesures et le traitement des erreurs est statistique (moyenne, écart-type,...). Cette analyse est utilisée lorsqu'on a peu d'indications sur les sources d'erreurs. Dans le cas de plusieurs mesures indépendantes, l'incertitude se calcule à l'aide de l'écart-type d'ordre σ_{n-1} appelé encore écart-type de l'échantillon. On prend alors comme valeur de mesure, la moyenne des mesures (\bar{g})

$$u_A(G) = \sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (g_i - \bar{g})^2}{n-1}}; \text{ où } \bar{g} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n g_i$$

Où $u_A(G)$ est l'incertitude de mesure de type A, σ_{n-1} : l'écart type de l'ordre n-1, g_i : la mesure, \bar{g} : la moyenne de n mesures et n : le nombre de mesures.

II.2.2. Incertitude de type B

L'incertitude de type B notée $u_B(G)$ est une incertitude qui ne peut être évaluée par des méthodes statistiques [II] (cas d'une mesure unique par exemple). Dans un tel cas de figure l'expression de l'incertitude sous forme d'écart-type nécessite une connaissance exacte des sources d'erreurs. La norme NF ENV 13005 [7] recommande d'utiliser directement l'incertitude type fournie par le constructeur de l'appareil.

Soit Δc l'incertitude-type fournie par le constructeur d'un appareil analogique de mesure donné (une burette par exemple), L'incertitude $u_B(G)$ sera $u_B(G) = \frac{\Delta c}{\sqrt{3}}$.

Pour un appareil numérique tel qu'une balance électronique, l'incertitude $u_B(G)$ sera $u_B(G) = \frac{\Delta c}{\sqrt{12}}$

A titre d'exemple, considérons une burette graduée de 25 ml dont la tolérance $\Delta c_1 = \pm 0,030$ ml et une balance électronique dont la tolérance $\Delta c_2 = \pm 0,1$ mg.

- L'incertitude de type B de la burette graduée sera

$$u_B(G) = \frac{\Delta c}{\sqrt{3}} = \frac{0,030}{\sqrt{3}} = 0,017 \text{ ml.}$$

- L'incertitude de type B de la balance électronique sera

$$u_B(G) = \frac{\Delta c}{\sqrt{12}} = \frac{0,1}{\sqrt{12}} = 0,02887 \text{ mg.}$$

II.2.3. Incertitude composée

L'incertitude peut provenir de plusieurs sources : à la fois de type A et de type B voire plusieurs type B différents (lecture, qualité de l'appareil, etc.). Elles doivent être combinées. On définit de ce fait, l'incertitude composée notée $u_C(G)$ correspondant à la racine carré de variance totale obtenue en combinant toutes les composantes de l'incertitude [27].

$$u_C(G) = \sqrt{\sum_{i=1}^n u_A^2(G) + u_B^2(G)}$$

II.2.4. Incertitude élargie

L'incertitude élargie $U(G)$ est une grandeur définissant un intervalle autour du résultat d'un mesurage dont on peut s'attendre à ce qu'il comprenne une fraction élevée de la distribution des valeurs qui pourraient être attribuées raisonnablement au mesurande [13]. La fraction peut être considérée comme la probabilité ou le niveau de confiance. L'association d'un niveau de confiance spécifique à l'intervalle défini par l'incertitude élargie nécessite des hypothèses explicites ou implicites sur la loi de probabilité caractérisée par le résultat de mesure et son incertitude type composée. Le niveau de confiance qui peut être attribué à cet intervalle ne peut être connu qu'avec la même validité que celle qui se rattache à ces hypothèses.

L'incertitude élargie $U(G)$ se calcule à partir d'une incertitude type composée $u_C(G)$ et d'un facteur d'élargissement k selon la formule suivante :

$$U(G) = k u_C(G)$$

Le facteur d'élargissement, k , a une valeur typiquement égale à 2 ou 3 [13], avec $k = 2$ pour un niveau de confiance de 95% et $k = 3$ pour un niveau de confiance de 99 %. On parle alors d'un intervalle de confiance :

$$[g - U(G), g + U(G)].$$

II.3. Sources de l'incertitude de Mesure

Les sources d'incertitude de mesure d'un résultat d'analyse sont nombreuses et variées, mais peuvent être groupés en (03) trois catégories : les équipements, la méthode et l'opérateur.

II.3.1. Equipements

Les équipements de laboratoire constituent une source non négligeable d'erreur d'un résultat d'analyse. En effet, chacune des étapes d'un protocole d'analyse microbiologique nécessite l'utilisation de consommables (milieux de culture et réactifs) et d'appareils qui apportent leur part d'incertitude sur le résultat final.

II.3.1.1. Milieux de culture et réactifs

Les milieux de culture sont des supports qui permettent la culture de cellules, de bactéries, de levures, de moisissures, afin de permettre leur étude. En principe, les microorganismes trouvent dans ces milieux les composants indispensables pour leur multiplication en grand nombre, rapidement, mais aussi parfois, des éléments qui permettront de privilégier un genre bactérien ou une famille. Ainsi, selon le but de la culture, il est possible de placer les micro-organismes dans des conditions optimales, ou tout à fait défavorables. L'utilisation des milieux de culture de moindre qualité, mal conservés ou périmés ne peut permettre l'obtention des résultats escomptés, quelque soit la technicité de l'opérateur; d'où l'intérêt d'utiliser les milieux de cultures et réactifs sûrs et validés par l'autorité compétente [19].

II.3.1.2. Appareils

Les effets des appareils peuvent comprendre par exemple, les limites de l'exactitude de l'étalonnage d'une balance analytique, un contrôleur de température qui peut maintenir une température moyenne (dans la spécification) différente de celle du réglage indiqué, etc. [27].

Les appareils de mesure doivent être régulièrement étalonnés par l'autorité compétente pour s'assurer de l'exactitude des mesurages [19]. Les enceintes thermiques doivent également être étalonnées, car la température d'incubation influence directement la vitesse de multiplication des microorganismes [24].

II.3.2. Méthodes

La méthode d'analyse influence directement son résultat. Ainsi le laboratoire doit appliquer des méthodes normalisées pour tous les essais et/ou étalonnages relevant de son domaine d'activité. Il doit s'assurer également, qu'il utilise la dernière édition de la norme sauf si cela n'est pas possible. Lorsque le recours aux méthodes non normalisées s'avère indispensable, ces dernières doivent être validées par le laboratoire [19].

II.3.3. Operateur

L'opérateur contribue à l'incertitude d'un résultat d'analyse par son aptitude à exécuter les protocoles d'analyse et à manier différents équipements d'analyse. Bien que les erreurs qui lui sont imputables ne puissent être annulées, elles peuvent cependant être réduites par une formation continue aux bonnes pratiques de laboratoire [21].

Deuxième partie
ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

Chapitre I.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I.1. Milieu d'étude

Notre étude a été réalisée au laboratoire d'Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (H.I.D.A.O.A.) de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (E.I.S.M.V.) de Dakar. Ledit laboratoire a été créé en 1980 avec comme vocation première l'enseignement et la recherche. En 1986, il a connu une nouvelle orientation vers la prestation des services, portant sur les analyses microbiologiques des denrées alimentaires d'origine animale. Dans la même année, il a été choisi par la direction de l'élevage pour le contrôle de ces denrées à l'importation. Depuis 1992, les activités du laboratoire d'HIDAOA se sont étendues sur les produits de la pêche, ce qui lui a valu d'être agréé par la Direction des Pêches Maritimes (DPM) du Sénégal, comme laboratoire officiel d'analyse microbiologique des produits halieutiques à l'exportation [14]. Parallèlement aux analyses microbiologiques de la DPM, d'autres activités telles que les autocontrôles des industriels du secteur privé et les formations des professionnels du secteur agroalimentaire.

Pour la reconnaissance de sa compétence, le laboratoire participe depuis 1989 au Réseau d'Analyse et d'Echange en Microbiologie des Aliments (RAEMA-France). Celui-ci est un réseau de laboratoires spécialisés en microbiologie des aliments. Pour être accrédité et reconnu comme laboratoire de référence en contrôle des aliments, il a mis en place un système d'assurance qualité et prépare l'accréditation COFRAC selon le référentiel ISO/CEI 17025 : 2005.

Le laboratoire d'HIDAOA est un service du département Santé publique et Environnement de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecines Vétérinaires (E.I.S.M.V.) de Dakar, qui possède une autonomie juridique sous l'autorité du Directeur de l'E.I.S.M.V. Il est situé au Km 9,5 Boulevard du Centenaire de la commune de Dakar et contigu aux abattoirs et au marché central des poissons de Dakar.

I.2. Période d'étude

La présente étude a été réalisée entre Août et Novembre 2009 soit une période de (04) quatre mois.

I.3. Matériel

Le matériel comprend des échantillons à analyser et du matériel technique.

I.3.1. Echantillons d'analyse.

Il s'agit de 100 échantillons d'aliments dont 25 du lait en poudre, 25 de la viande de buffle congelée, 25 de foie de bœuf et 25 de filets de poissons congelés. Le choix du nombre d'échantillons à été dicté par la norme ISO/TS 19036:2006 [11] qui exige au minimum, 10 échantillons pour chaque matrice. Quant aux matrices considérées, ce sont celles qui sont analysées régulièrement au laboratoire HIDAOA de l'EISMV.

I.3.2. Matériel technique

Le matériel utilisé pour la bactériologie est composé de :

- Matériel de prélèvement (ciseaux, pinces) ;
- Matériel de stérilisation (four Pasteur, bec Bünsen, autoclave) ;
- Balance de précision ;
- Verrerie (boîtes de Pétri, tubes à essais, pipettes, étaleuse) ;
- Milieux de cultures et réactifs ;
- Agitateurs de type vortex ;
- Portoires de tube à essais ;
- Etuves d'incubation à 30, 37, 44 et 55°C ;
- Broyeur à palettes de type STOMACHERND.

I.4. Méthodes

La méthodologie utilisée au cours de notre travail est celle préconisée par la norme ISO/TS 19036:2006 intitulée : « *Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives* » [11].

Le travail a été effectué en deux (02) étapes : la détermination des composantes d'incertitude de mesure et son estimation.

I.4.1. Détermination des composantes de l'incertitude de mesure

La détermination des composantes de l'incertitude a été réalisée selon l'approche globale proposée par la norme ISO/TS 19036 [11]. Elle consiste à considérer le protocole expérimental dans sa globalité et à identifier les sources potentielles de l'incertitude de mesure. Les germes considérés et les protocoles d'analyse utilisés dans cette étude sont consignés dans le tableau I.

Tableau I. Germes recherchés et Méthodes d'analyse utilisées

Germe recherché	Méthode d'analyse	Référence Normative
Microorganismes aérobie à 30°C	Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30°C ; [8].	NF V 08-051, 1999.
Coliformes Thermotolérants	Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage de colonies obtenues à 44°C ; [3].	NF V 08 60, 1996.
Staphylocoques présumés pathogènes	Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage de colonies obtenues à 37°C ; [1].	V 08 057-1, 1994
Bactéries anaérobies sulfito-réductrices	Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfito réductrices par comptage des colonies; [4]	NF V 08 061,1996.
Salmonelles	Recherche de <i>Salmonella</i> ; [5].	NF V 08 013, 1996.

L'approche globale peut être considérée comme un système de « boîte noire », comme le montre le diagramme de la figure 1 où sont identifiées les principales sources d'incertitude en microbiologie des aliments.

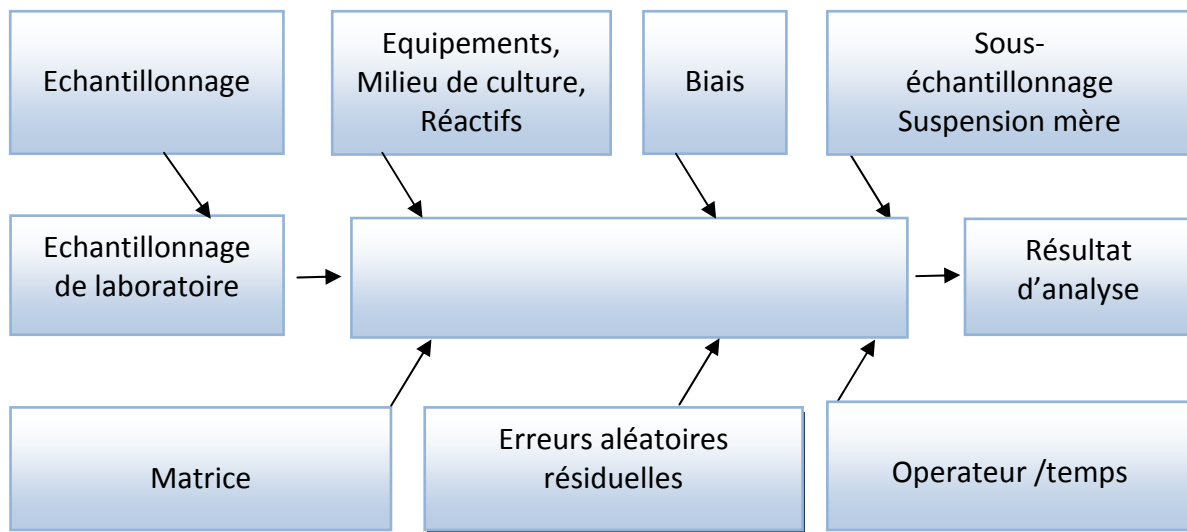


Figure 1. Diagramme des principales sources d'incertitude en microbiologie des aliments, et approche « boîte noire » de l'incertitude de mesure.

Source : ISO/TS 19036 [11]

1.4.2. Estimation de l'incertitude de mesure

L'estimation de l'incertitude a été réalisée par le calcul de l'écart-type de reproductibilité intra-laboratoire. L'écart type de reproductibilité intra-laboratoire est la meilleure option pour obtenir l'incertitude de mesure [11], car elle permet au laboratoire d'associer la valeur de l'incertitude de mesure à ses propres résultats, respectant ainsi le principe de la définition de mesure.

1.4.2.1. Protocole expérimental

Pour chaque microorganisme cible et pour un type donné de matrice, 25 échantillons d'une même matrice ont été analysés par deux (02) groupes d'opérateurs A et B du même laboratoire (**Figure 2**). L'objectif était de créer les conditions d'analyse aussi différentes que possible, incluant autant de variations qu'il peut s'en produire d'un jour à l'autre au sein du laboratoire. Pour chaque échantillon, chaque opérateur prélève une prise d'essai et prépare à partir de cette dernière, une suspension mère qui est analysée une seule fois selon une méthode normalisée.

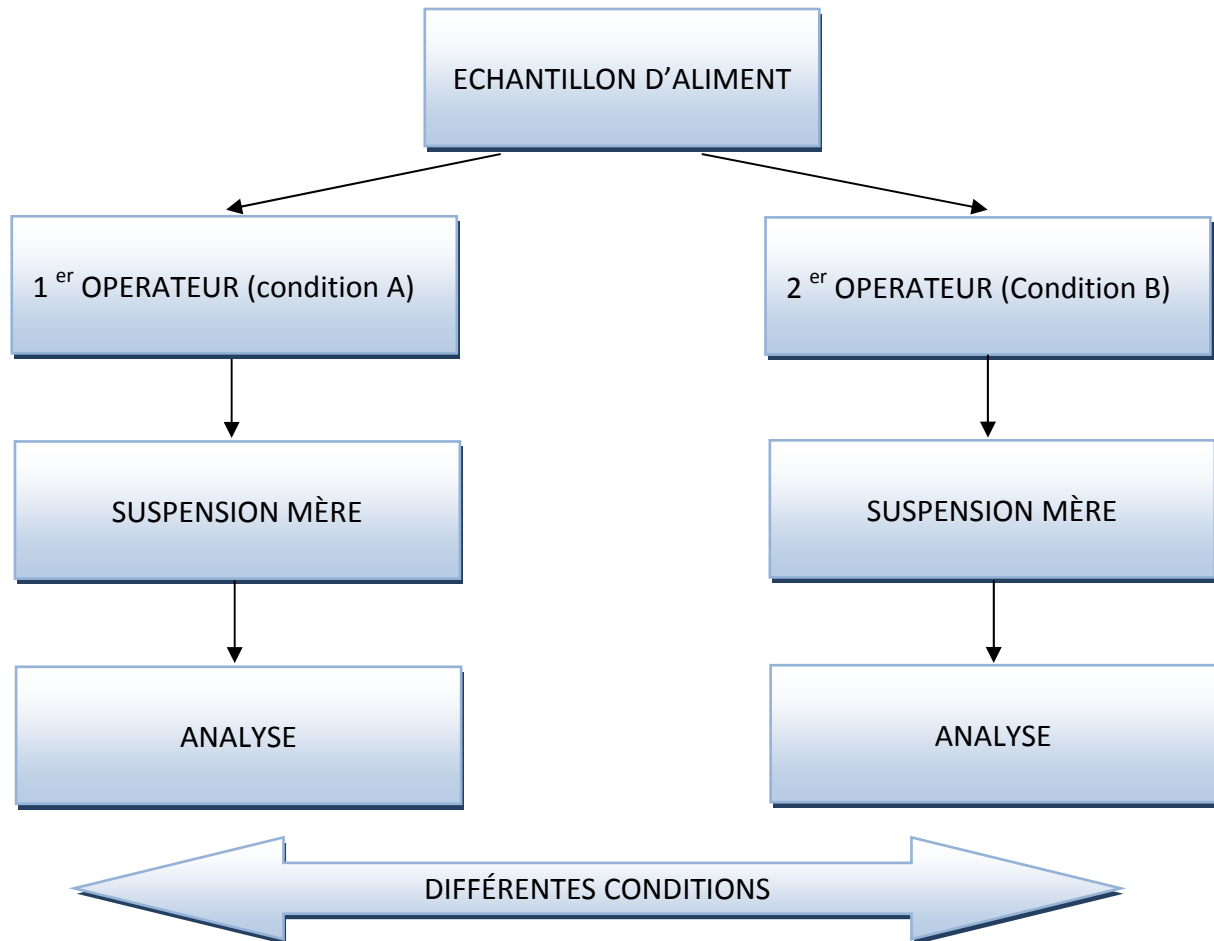


Figure 2. Protocole expérimental pour l'écart type de reproductibilité intra-laboratoire
 Source : ISO/TS 19036 [11]

1.4.2.2. Expression des résultats

Conformément à la pratique normale, avant les calculs, les données (résultats du dénombrement microbiologique) exprimés en ufc/g ou ufc/ml doivent être transformés en \log_{10} (ufc/g) ou \log_{10} (ufc/ml). L'écart type de reproductibilité s_R pour les n échantillons d'une matrice donnée se calcule par la formule suivante [11] :

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}}$$

Où

- y_{ij} sont les données log-transformées en \log_{10} (ufc/g) ou \log_{10} (ufc/ml) ;
- i est l'indice de l'échantillon, $i=1$ à n ($n=10$) ;
- j est l'indice de la condition de reproductibilité, $j= A$ ou B

Chapitre II.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats

Dans la présentation des résultats, nous avons procédé à la détermination des composantes de l'incertitude de mesure avant son estimation.

II.1.1. Détermination des composantes de l'incertitude de mesure

Les composantes de l'incertitude de mesure ont été déterminées pour les cinq (05) types de germes dont la recherche et le dénombrement sont exigés par la réglementation européenne à savoir : la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes thermotolérants (CTT), les staphylocoques présumés pathogènes (SPP), les bactéries anaérobies sulfite-réductrices (ASR) et les salmonelles (Salm). Le tableau II présente les composantes de l'incertitude de mesure pour chacun des microorganismes ciblés.

II.1.2. Estimation de l'incertitude de mesure

L'estimation de l'incertitude de mesure a été réalisée pour les germes dont la recherche dans les aliments correspond à un dénombrement (détermination quantitative) à savoir la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes thermotolérants (CTT), les staphylocoques présumés pathogènes (SPP) et les bactéries sulfite-réductrices (ASR). La recherche des salmonelles n'a pas été concernée par cette estimation car elle correspond à une détermination qualitative (absence ou présence dans les aliments). Les matrices concernées sont le lait en poudre, la viande de buffle congelée, les foies de bœuf congelés et les filets de poissons congelés.

Le tableau III présente les écarts-types de reproductibilité de la contamination de matrices considérées par différents germes. La méthodologie du calcul de l'écart-type de reproductibilité est décrite en annexe.

Tableau II. Composantes de l'incertitude de mesure pour les microflores ciblées

COMPOSANTES DE L'INCERTITUDE	MICRO-ORGANISMES CIBLÉS				
	FMAT	CTT	SPP	ASR	Salm.
Préparation des milieux de culture	X ¹	X	X	X	X
Préparation de l'échantillon (Homogénéité)	X	X	X	X	X
Pesée de la prise d'essai	X	X	X	X	X
Pipetage du diluant, nombre de dilutions	X	X	X	X	X
Temps de broyage au STOMACHER ND	X	X	X	X	X
Temps de revivification	X	X	X	X	X
Pipetage de la prise d'essai	X	X	X	X	X
Température de l'étuve MEMMERT 30°C	X				
Température de l'étuve MEMMERT 37°C			X	X	X
Température de l'étuve MEMMERT 42°C					X
Température de l'étuve MEMMERT 44°C		X			
Température de l'étuve MEMMERT 55°C	X	X	X	X	X
Temps de séjour à la température de l'étuve	X	X	X	X	X
Comptage des colonies	X	X	X	X	X
Identification des colonies			X		X
Identification API					X
Qualité des milieux de cultures et réactifs	X	X	X	X	X

Tableau III. Ecart types de reproductibilité² pour les matrices ciblées.

Germes	MATRICES				Moyenne
	Lait en poudre	Viande de buffle	Foie de bœuf	Filets de poisson	
FMAT	0,118	0,131	0,143	0,183	0,144
CTT	0,082	0,085	0,078	0,097	0,086
SPP	0,146	0,150	0,148	0,189	0,158
ASR	0,067	0,083	0,072	0,080	0,076

¹ X : composante de l'incertitude de mesure pour le germe considéré.

² Les valeurs de l'écart-type de reproductibilité sont données en (\log_{10}) ufc/g

II.2. Discussion

La discussion de nos résultats consistera à justifier scientifiquement le choix de différentes composantes de l'incertitude de mesure et à expliquer la variabilité de l'incertitude de mesure observée entre les (04) quatre matrices ciblées et au sein de chacune d'entre elles.

II.2.1. Composantes d'incertitude

II.2.1.1 Préparation et conservation des milieux de culture

La majorité des milieux de cultures utilisés en microbiologie alimentaire sont des milieux déshydratés nécessitant une réhydratation avant l'emploi. Cette dernière consiste à peser à l'aide d'une balance de précision (Balance BP 1200S), une quantité déterminée du milieu et de la diluer avec l'eau distillée, conformément aux prescriptions du fabricant. Les milieux déjà réhydratés sont conservés à l'étuve à 55°C pour éviter leur solidification.

La préparation des milieux de culture contribue à l'IM par le risque de dosage des facteurs de croissance des bactéries dans le milieu de culture et un risque de solidification de ce dernier, avant l'utilisation, lorsque la température optimale à sa conservation n'est pas respectée [2].

II.2.1.2. Préparation de l'échantillon

La contamination naturelle des produits alimentaires, en particulier les produits solides après traitement, est souvent très hétérogène. Certaines zones sont plus ou moins contaminées que les autres en fonction leur contact avec les sources de contamination [15], [23]. Cette hétérogénéité doit être prise en compte dans l'estimation de l'incertitude de mesure, surtout lorsqu'il faut porter un jugement sur la conformité de l'échantillon analysé par rapport aux critères microbiologiques [11].

II.2.1.3. Pesée de la prise d'essai

La pesée de la prise d'essai contribue à l'IM par une estimation erronée de la contamination réelle de la denrée analysée liée aux erreurs de pesée.

En effet, la pesée de la prise d'essai (Balance OHAUS 2100) est l'une des composantes majeures de l'incertitude de mesure d'un résultat d'analyse en microbiologie des aliments. Elle constitue le point de départ de l'analyse et la base de l'expression du résultat d'analyse tant pour les déterminations quantitatives (x ufc par y grammes de produit) que pour les déterminations qualitatives (présence ou absence dans x grammes de produit) [2]. L'exactitude de la prise d'essai est donc primordiale pour l'obtention des résultats fiables.

II.2.1.4. Temps de broyage et de revivification

Le broyage est une étape importante de la microbiologie alimentaire. Il permet en effet la dispersion des germes dans le liquide de dilution [2]. Le broyeur utilisé est de type STOMACHERND. Le mélange constitué d'aliment et du diluant introduit dans le sachet STOMACHER est scellé, puis mis dans l'appareil où il subit des chocs rythmiquement par deux (02) palettes pendant 30 à 60 secondes [6]. Les chocs dilacèrent le produit et mettent les germes en suspension. Un temps de broyage inférieur à 30 secondes constitue un risque d'une homogénéisation incomplète de la contamination de l'aliment. Quant à l'excès de broyage ($t > 60$ secondes) il est responsable de dommage des membranes bactériennes pouvant entraîner une sous-estimation de la contamination réelle de l'aliment. [2]

Le mélange homogène est alors laissé au repos à la température ambiante pendant 45 minutes au maximum, pour permettre la revivification des germes. Un temps revivification dépassant 45 constitue un risque d'une multiplication des germes avant la culture et une surestimation de la contamination réelle de l'aliment [6]. Le respect du temps de broyage et de revivification permet d'obtenir une suspension mère parfaitement homogène et une revivification totale des germes avant leur culture.

II.2.1.5. Diluant et nombre de dilutions décimales

En microbiologie des aliments, le diluant est un milieu de culture permettant la préparation de la suspension mère, à partir duquel on réalise différentes dilutions décimales. Il permet notamment la revivification des microorganismes ayant subi des traitements sublétaux comme le broyage. [25]. Il doit être en quantité suffisante et d'une qualité irréprochable pour assurer une revivification parfaite. Le nombre des dilutions décimales doit également être pris en compte.

En effet, lorsque l'échantillon d'analyse est fortement contaminé, le comptage des colonies devient difficile aux faibles dilutions décimales car on observe un chevauchement des colonies voisines [6]. Il est donc recommandé d'utiliser des dilutions décimales permettant un comptage aisé des colonies après culture.

II.2.1.6. Pipetage de la prise d'essai

Le pipetage de la prise d'essai constitue un point critique de l'estimation de l'incertitude de mesure par le simple fait que les germes présents dans un volume déterminé de la suspension pipetée, sont ceux qui pousseront sur le(s) milieu(x) de culture. Ils détermineront la contamination microbienne de l'échantillon analysé [2]. L'exactitude du pipetage est fonction de l'habileté du manipulateur mais aussi et surtout de la justesse de l'instrument de pipetage [27].

II.2.1.7. Température et durée de l'incubation

En microbiologie alimentaire, l'incubation consiste à mettre les cultures microbiennes dans des conditions optimales (température, atmosphère) de croissance pendant une période déterminée [24]. La température des étuves (Etuves à 30, 37, 42 et 44°C) favorise la multiplication de certaines espèces, tout en inhibant celle des autres ; ce qui permet d'obtenir, au bout de l'incubation, des colonies des espèces bactériennes voulues. La durée d'incubation, spécifique à chaque espèce bactérienne, doit être respectée pour permettre un dénombrement parfait. La croissance bactérienne comporte en effet, six (06) phases successives (**Figure 3**). Le dénombrement doit s'effectuer dans la phase de croissance stationnaire au cours de laquelle la population bactérienne reste constante [2].

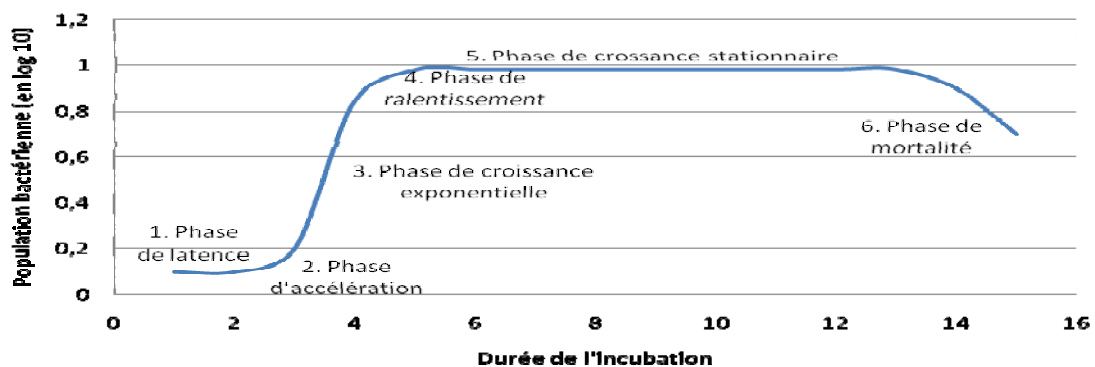


Figure 3. La croissance bactérienne au cours de l'incubation
Source : [26]

II.2.1.8. Comptage des colonies

Le dénombrement de certains germes dans les aliments, exige de ne retenir que des boîtes de Pétri présentant un nombre important de colonies dont le comptage présente un risque élevé d'erreur pouvant affecter directement le résultat final. Nous pouvons citer à titre d'exemple le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale, qui exige de ne retenir que des boîtes de Pétri des dilutions successives contenant plus de 15 et moins de 300 colonies [6]. Le nombre de microorganismes présents dans un échantillon d'aliment donné s'obtient par la formule suivante [10] :

$$N = \frac{\sum c}{V(n_1 + 0,1 n_2)d}$$

Où

- N est le nombre de microorganismes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits)
- $\sum c$ est la somme des colonies comptés sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au minimum 15 colonies;
- V est le volume de l'inoculum appliqué a chaque boîte chaque de Pétri, en millilitres;
- n_1 et n_2 sont les nombres de boîtes retenues respectivement à la première et à la deuxième dilution retenue ;
- d est la première dilution retenue. Si nous retenons à titre d'exemple les dilutions 10^{-2} et 10^{-3} , la première dilution sera 10^{-2} .

Sachant que $\sum c$ est directement proportionnel à N , une erreur de comptage de colonies entrainerait directement une erreur dans le résultat final.

II.2.1.9. Identification des colonies

Même si le risque d'erreur liée à la caractérisation des colonies au cours du dénombrement des germes semble moindre, Il n'en est pas de même pour les analyses nécessitant une confirmation biochimique. Cette dernière exige en effet l'utilisation des milieux, réactifs et consommables supplémentaires apportant chacun sa part d'erreur sur le résultat final. Nous pouvons citer entre autres la recherche des staphylocoques présumés pathogènes qui exige les tests à la catalase et à la coagulase [1] et la recherche des salmonelles qui en dehors d'une identification et une purification, nécessite l'utilisation de la galerie API® pour la confirmation [5].

II.2.1.10. Qualité et condition de stockage des consommables

La qualité du résultat d'analyse dépend de celle des milieux de culture et des réactifs utilisés pour l'obtenir. Pour garantir cette qualité et minimiser l'incertitude de mesure qui leur est imputable, il est recommandé aux laboratoires d'utiliser dans la mesure du possible, les consommables (milieux de culture, réactifs, etc.) homologués provenant des fabricants certifiés [21]. Ces consommables doivent être conservés dans de conditions ne pouvant altérer leur qualité, conformément aux prescriptions du fabricant et dans le respect strict des dates de péremption [16].

II.2.2. Incertitudes estimées des résultats d'analyses

Par manque de normes fixant des valeurs de référence d'incertitude de mesure, il nous a été impossible de comparer nos résultats à ceux présentés dans la norme ISO/TS 19036:2006, car ces derniers ne sont donnés qu'à titre indicatif pour guider des laboratoires dans le choix des matrices à soumettre à l'essai pour l'estimation de l'incertitude de mesure [11]. Ils ne peuvent donc en aucun cas servir de valeurs de référence pour l'estimation de l'incertitude. Dans notre discussion nous précéderons à l'analyse de la variabilité de l'incertitude de mesure, en fonction des matrices ciblées et au sein d'une même matrice en fonction de la microflore recherchée.

II.2.2.1. Variabilité intra-matricielle

Au sein de chacune des quatre matrices considérées, nous avons constaté une variation de l'Ecart type de reproductibilité (ETR) en fonction du germe recherché. En effet par ordre d'importance, et dans chaque matrice l'ETR des staphylocoques présumés pathogènes (SPP) était le plus élevé suivi de celui de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) et enfin ceux des coliformes thermotolérants (CTT) et les bactéries sulfite-réductrices (ASR) (**Figure 4**). Considérant qu'il existe une part d'Incertitude liée au matériel d'analyse, et que cette dernière est constante pour tous les germes, la variabilité de l'Ecart type de reproductibilité observée au sein d'une même matrice serait imputable à la méthode d'analyse (variable en fonction des germes) mais aussi à l'opérateur chargé l'exécuter.

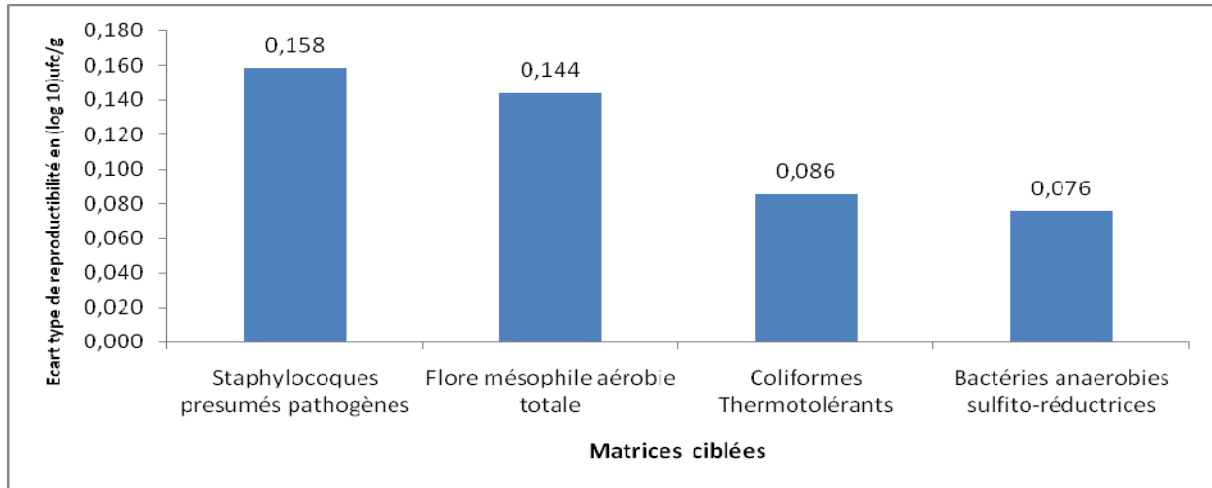


Figure 4. Variabilité intra-matricielle de l'écart-type de reproductibilité

L'ETR élevé des SPP serait due à la réaction de confirmation biochimique. En effet, le dénombrement de ces germes dans les aliments, nécessite une confirmation des colonies caractéristiques par les tests (à la catalase et à la coagulase [1]) dont l'exécution et la qualité des réactifs (Eau oxygénée et le plasma de lapin) sont susceptibles d'influencer le résultat final. L'ETR élevé de la FMAT s'expliquerait par l'erreur de comptage des colonies. En effet, le dénombrement de la FMAT exige le comptage de toutes les colonies sur deux boîtes de Pétri de dilutions successives comptant chacune entre 15 et 300 colonies par boîte [1]. Ce comptage de colonies présente une possibilité d'erreur non négligeable pouvant influencer considérablement le résultat final, surtout lorsqu'il est réalisé manuellement.

Les coliformes thermotolérants et les bactéries sulfito-réductrices présentent les plus faibles valeurs d'ETR. Cela s'expliquerait par le fait que leur dénombrement n'exige aucune confirmation biochimique et que le nombre de colonies caractéristiques à prendre en compte n'est pas aussi élevé que dans les cas précédents [1],[4]. Il s'élève à moins de 150 colonies caractéristiques pour les coliformes thermotolérants [1]. L'infériorité de l'ETR des ASR sur celui des CTT serait liée également au comptage. En effet, les ASR sont cultivés dans des tubes en anaérobiose et forment des colonies caractéristiques (entourées d'un halo noir) moins nombreuses et facilement identifiables que celles des CTT.

II.2.2.2. Variabilité inter-matricielle

Une variabilité de l'Ecart type de reproductibilité (ETR) a également été observée entre différentes matrices ciblées. Elle serait liée à la nature physique de la matrice. Le lait en poudre présente les ETR les plus faibles, suivi de la

viande de buffle et le foie de bœuf. Les filets de poissons congelés présentent des valeurs les plus élevées (**Figure 5**).

Les fortes valeurs d'ETR observées dans les 3 dernières matrices s'expliqueraient par l'hétérogénéité de la contamination de ces produits, liée à leur mode de préparation. En effet, la localisation des germes sur ces derniers a une tendance plutôt élective. Chez le poisson fraîchement pêchés, le mucus de la peau, les branchies et les intestins constituent les localisations naturelles privilégiées des germes [15], Il en est de même de la peau et des réservoirs gastriques chez les ruminants [23]. Ainsi au niveau du produit fini (filets, viande, foie) après préparation, les parties se trouvant à proximité des sources de contamination, seront plus contaminées que celles qui en sont éloignées. A cette hétérogénéité de la contamination naturelle (endogène) s'ajoute la contamination exogène liée à l'opérateur qui est également hétérogène.

En effet, les denrées alimentaires d'origine animale sont plus contaminées en surface qu'en profondeur en raison de la contamination humaine lors de leur préparation (habillage, éviscération, filetage, etc.). [23]. Les ETR élevées observées chez les filets de poisson congelés, le foie de bœuf et la viande de buffle seraient donc le résultat de l'hétérogénéité de leur contamination primaire et secondaire.

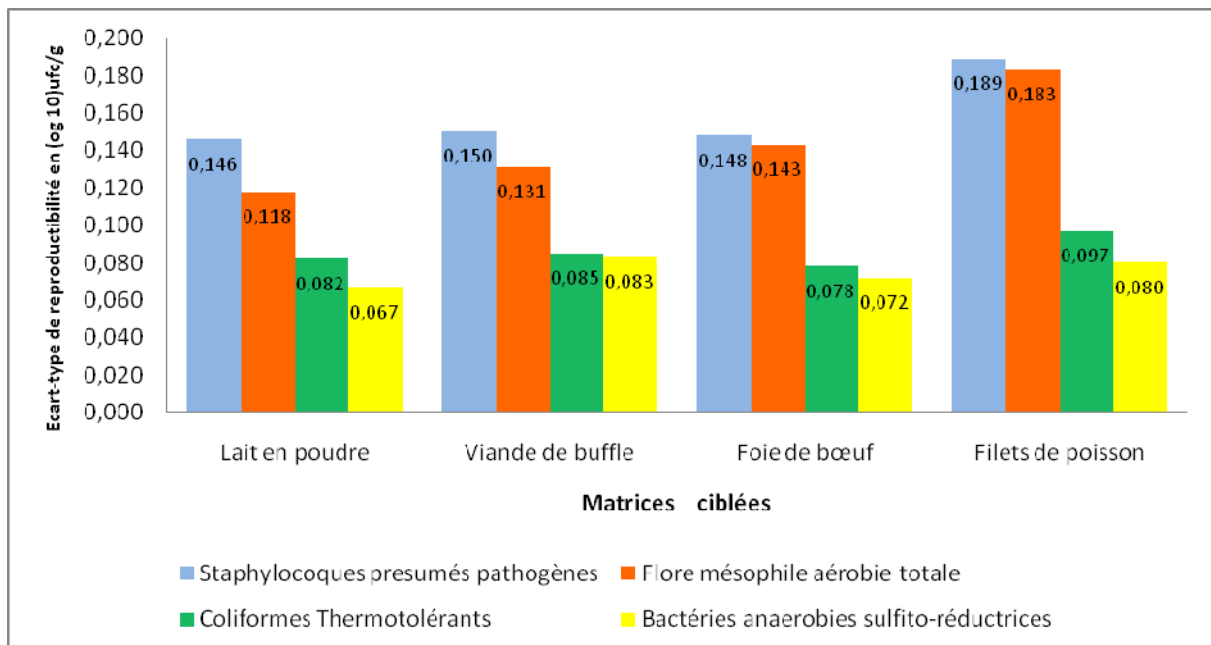


Figure 5. Variabilité inter-matricielle de l'écart-type de reproductibilité

Les faibles valeurs d'écart type de reproductibilité observées dans la matrice lait en poudre, sont imputables à sa nature physique. En effet, l'influence de la matrice sur l'incertitude de mesure est très faible dans les denrées en poudre et des liquides [11]. Dans ces dernières, la dissémination des contaminants s'effectue d'une manière relativement homogène. Ce qui réduit sensiblement l'incertitude liée l'hétérogénéité de la contamination, observés dans les denrées alimentaires solide.

L'incertitude de mesure estimée varie d'une matrice à l'autre, et dans une même matrice, elle est fonction de la microflore recherchée. La variabilité intramatrice est due à la méthode d'analyse et à l'opérateur. Celle observée entre différentes matrices est imputable à la nature physique du produit et à l'hétérogénéité de sa contamination.

Chapitre III.

RECOMMANDATIONS

Bien que les valeurs d'incertitudes estimées obtenues au cours de notre travail soient relativement faibles (la plus forte des incertitudes s'élève à 0,189 (\log_{10}) ufc/g soit 1,52 ufc/g de produit), le souci d'une amélioration continue reste primordial, d'autant plus qu'il n'existe pas encore des valeurs de référence des incertitudes de mesure en microbiologie alimentaire. Nos recommandations rejoignent des exigences de la Norme ISO 17025:2005[19] relative à la maîtrise des principales sources d'incertitude de mesure en microbiologie alimentaire à savoir la méthode, le matériel et l'opérateur.

III.1. Maîtrise de l'IM liée à la méthode d'analyse

La maîtrise de l'incertitude de mesure des résultats d'analyse commence par celle des méthodes utilisées. A ce sujet la norme ISO 17025:2005 [19] recommande aux laboratoires d'utiliser les méthodes normalisées et de s'assurer que la version utilisée est la plus récente. En cas d'impossibilité, le laboratoire est tenu de valider les méthodes non-normalisées afin de confirmer qu'elles sont aptes à l'emploi prévu. La maîtrise de l'incertitude liée aux méthodes d'analyse consiste donc en une veille normative rigoureuse associée à une veille technologique. En effet, l'obtention des résultats scientifiquement fiable exige en amont l'utilisation d'un matériel de qualité irréprochable.

III.2. Maîtrise de l'IM liée aux équipements d'analyse

Les équipements d'analyse (Appareils de mesure, enceintes thermiques, milieux de culture et réactifs, pipettes et autres consommables de laboratoire) apportent une part non négligeable à l'incertitude global du résultat d'analyse. Bien que cette dernière ne puisse être annulée, elle peut être réduite par l'application des bonnes pratiques de laboratoire entre autres :

- Utiliser dans la mesure du possible, les consommables (milieux de culture, réactifs, etc.) homologués provenant de fabricants certifiés et les conserver en suivant les prescriptions du fabricant (température, humidité, date de péremption) ;

- Procéder régulièrement à l'étalonnage des appareils (balances, enceintes thermiques) et vérifier leur exactitude avant l'utilisation ; et
- Utiliser les pipettes présentant une faible marge d'erreur.

III.3. Maîtrise de l'IM lié à l'opérateur

L'opérateur contribue à l'IM globale par son aptitude à exécuter les méthodes d'analyse. Ainsi une formation régulière des techniciens aux bonnes pratiques de laboratoire en microbiologie alimentaire (choix du nombre de dilutions, respect du temps de revivification, ensemencement entre deux couches de milieu de culture, vérification des appareils avant l'utilisation, etc.) réduirait considérablement, la part de l'incertitude de mesure imputable à l'opérateur. La norme NF ISO 7218 : 1996 [2] : « *Règles générales pour les examens microbiologiques* » constitue un recueil des bonnes pratiques de laboratoire pouvant guider dans la formation des techniciens. En outre, l'utilisation d'un compteur de colonies électronique, permettrait la réduction de la marge d'erreur observée lors du comptage manuel.

L'inexistence des valeurs de référence d'Incertitude de mesure pour les analyses microbiologiques, constitue un handicap majeur à la maîtrise des sources d'incertitudes dans les laboratoires de microbiologie alimentaire [29]. Cependant, la participation aux réseaux d'échanges entre laboratoires de microbiologie alimentaire, permettrait à ces derniers d'évaluer et de démontrer la pertinence des résultats de leurs analyses, par comparaison à ceux des autres laboratoires et de revoir, si le besoin est, leurs procédures analytiques et leur système d'assurance qualité et par la suite, mettre en place des actions correctives adaptées.

CONCLUSION

La validité des contrôles microbiologiques, réalisées dans l'objectif d'assurer la sécurité sanitaire des aliments, nécessite notamment l'obtention des résultats d'analyse fiables. La fiabilité des résultats implique l'utilisation des méthodes normalisées, mises en œuvre par un personnel qualifié avec un matériel adapté. L'estimation de l'incertitude de mesure permet d'apprécier cette fiabilité. Elle constitue l'une des exigences techniques de la norme ISO 17025 :2005, selon laquelle le laboratoire HIDAOA de l'EISMV cherche à se faire certifier par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC).

La recherche et le dénombrement de cinq (05) germes (la flore mésophile aérobie totale (FMAT), les coliformes thermotolérants (CTT), les staphylocoques présumés pathogènes (SPP), les bactéries anaérobies sulfite-réductrices (ASR) et les salmonelles) dans 100 échantillons d'aliments groupés en (04) quatre matrices (lait en poudre, viande de bœuf, foie de bœuf et filets de poissons congelés) ont été réalisés selon les méthodes normalisées françaises. Ils ont permis la détermination des composantes de l'incertitude de mesure et son estimation selon la norme ISO/TS 19036:2006.

Une variabilité de l'incertitude de mesure (IM) a été observée entre différentes matrices et au sein d'une même matrice en fonction de la microflore recherchée. Les filets de poissons congelés ont donné les valeurs d'IM les plus élevées. Ils sont suivis par la viande de bœuf, le foie de bœuf et enfin la poudre de lait. Cette variation est imputable à la nature physique de la matrice et à l'hétérogénéité de sa contamination. Dans chacune des (04) quatre matrices, une variation de l'IM en fonction du germe a été observée. En effet, les SPP ont donné les plus fortes valeurs d'IM, suivis de la FMAT, les CTT et enfin les ASR. Cette variabilité est imputable à la méthode d'analyse, variable en fonction du germe et à l'opérateur.

Bien que les valeurs d'IM obtenues au cours de notre travail soient relativement faibles (la plus forte des incertitudes s'élève à 0,189 (\log_{10}) ufc/g soit 1,52 ufc/g de produit), le souci d'une amélioration continue axée sur une veille normative et technologique et une formation régulière aux bonnes pratiques de laboratoire reste primordial. Ce qui est nécessaire d'autant plus qu'il n'existe pas encore des valeurs de référence des incertitudes de mesure en microbiologie alimentaire.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bibliographie classique

1. **AFNOR, 1994.** Microbiologie des aliments – Méthode de routine pour le dénombrement des Staphylocoques à coagulase positive par comptage de colonies obtenues à 37°C, V 08 057-1, Paris, AFNOR, 23p.
2. **AFNOR, 1996.** Microbiologie alimentaire – Règles générales pour les examens microbiologiques, NF ISO 7218, Paris, AFNOR, 25p.
3. **AFNOR, 1996.** Microbiologie des aliments – Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage de colonies obtenues à 44°C, NF V 08 60, Paris, AFNOR, 20p.
4. **AFNOR, 1996.** Microbiologie des aliments – Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite réductrices par comptage des colonies. NF V 08 061, Paris, AFNOR, 22p.
5. **AFNOR, 1996.** Microbiologie des aliments – Recherche de Salmonella, NF V 08 013, Paris, AFNOR, 20p.
6. **AFNOR, 1996.** Microbiologie des aliments – Règles générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique, NF V 08 010, Paris AFNOR, 20p.
7. **AFNOR, 1999.** Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure NF ENV 13005, AFNOR, 17p.
8. **AFNOR, 1999.** Microbiologie des aliments – Dénombrement des microorganismes par comptage des colonies obtenues à 30°C, NF V 08-051, Paris, AFNOR, 22p.
9. **AFNOR, 2000.** Système de management de la qualité – Exigences. NF EN ISO 9001, Paris AFNOR, 17p.
10. **AFNOR, 2001** Microbiologie alimentaire – Règles générales pour les examens microbiologiques, NF ISO 7218/A1, Paris, AFNOR, 12p.
11. **AFNOR, 2006.** Microbiologie des aliments – Lignes directrices pour l'estimation de l'incertitude de mesure pour les déterminations quantitatives, XP ISO/ TS 19036, Paris, AFNOR, 18p.
12. **FAO, 1995.** Application de l'Analyse de risque dans le domaine des normes alimentaires-Rapport de la Consultation mixte d'experts FAO/OMS, Genève, 235p.
13. **GUM, 1993.** Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, BIPM/CEI/FICC/ISO/OIML/UICPA/UIPPA
14. **HIDAOA,** laboratoire de, 2007. Manuel qualité du laboratoire HIDAOA, Dakar, EISMV, 2004, 40p.
15. **HUSS, H.H., 1999.** La qualité et son évolution dans le poisson frais. Rome: FAO; DANIDA, 145p.
16. **ISO, 1994.** Modèle pour l'assurance de la qualité en production, installation et prestations associés, ISO 9002, Genève, 20p.

17. **ISO, 2000.** Système de management de la qualité- Principe essentiel et vocabulaire. ISO 9000, Genève, 23p.
18. **ISO, 2000.** Systèmes de management de la qualité – Lignes directrices pour l'amélioration des performances. ISO 9004, Genève, 19p.
19. **ISO, 2005.** Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essai. ISO 17025, Genève, 25p.
20. **KONE A. L., 2006.** Mise en place d'un système d'assurance qualité au laboratoire d'analyse microbiologique des produits alimentaires. Cas du laboratoire d'HIDAOA de l'EISMV de Dakar: Mémoire de CES. CES de contrôle de la qualité des médicaments et des aliments. Dakar, UCAD, 35p.
21. **MARCHAL N., 1998.** La démarche qualité au laboratoire de Biologie Médicale. Arch. Inst. Pasteur, Madagascar; 64 (1&2): 85-87.
22. **MARTIN S.A., 2002.** Mise sous assurance qualité d'un laboratoire en Nouvelle-Calédonie, selon la norme NF EN ISO/CEI 17025, dans un but d'accréditation. Thèse Med. Vét. Toulouse, 120p.
23. **ROZIER J., CARLIER F., BOLNOT F., 1985.** Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris; éd. SEPAIC, 230p.
24. **ZEE J. A. ; BOUCHARD C. ; SIMARD R. E. ; PICHARD B. ; HOLLEY R., 1986.** Effet du pH, de la température et de divers sels sur la croissance de *Lactobacillus plantarum* sous atmosphères modifiées. Elsevier, Oxford, Royaume-Uni, vol. 19, no2, pp. 132-137.

Webographie

1. **BIOKAR DIAGNOSTICS**, Eau peptonée tamponnée. [En ligne]. Disponible sur <http://www.biokar-diagnostics.com> (Consulté le 25/09/2009).
2. **CORPET D.**, Ecologie Microbienne. [En ligne]. Disponible sur <http://www.corpet.net/denis> (consulté le 11/11/2009).
3. **EURACHEM/CITAC**, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques. Deuxième édition. QUAM, 2001. [En ligne] Disponible sur <http://lne.fr>.(consulté le 25/09/2009).
4. **ISO**, Les normes internationales pour les entreprises, les gouvernements et la société. [En ligne]. Disponible sur <http://www.iso.org> (consulté le 28/08/2009).
5. **LOMBARD B.**, Les essais inter-laboratoires en microbiologie des aliments. Thèse de l'Ecole doctorale d'ABIES. [En ligne]. Disponible sur: http://pastel.paristech.org/00001258/01/M%C3%A9moire_Th%C3%A8se_BL_Final.pdf (consulté le 11/11/2009).
6. **OMS.**, Qualité et salubrité des aliments- Communication FAO. En ligne]. Disponible sur: <http://www.who.int/inf-pr-2001/fr/cp2001-30.html>. (consultée le 20 Mai 2009)

ANNEXES

Annexe1. Ecart-types de reproductibilité de la contamination du lait en poudre par la FMAT

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	2,50E+03	3,50E+03	3,40	3,54	0,0107
2	9,94E+04	8,20E+04	5,00	4,91	0,0035
3	1,40E+03	2,40E+03	3,15	3,38	0,0274
4	7,00E+02	8,20E+02	2,85	2,91	0,0024
5	2,00E+02	3,50E+02	2,30	2,54	0,0295
6	3,00E+01	4,50E+01	1,48	1,65	0,0155
7	8,80E+02	9,20E+02	2,94	2,96	0,0002
8	4,00E+02	3,20E+02	2,60	2,51	0,0047
9	8,70E+03	7,80E+03	3,94	3,89	0,0011
10	6,50E+03	5,70E+03	3,81	3,76	0,0016
11	5,20E+03	6,20E+03	3,72	3,79	0,0029
12	4,60E+03	5,20E+03	3,66	3,72	0,0014
13	3,20E+04	4,10E+04	4,51	4,61	0,0058
14	6,10E+02	7,30E+02	2,79	2,86	0,0030
15	3,50E+02	2,60E+02	2,54	2,41	0,0083
16	5,80E+02	4,50E+02	2,76	2,65	0,0061
17	7,20E+04	6,80E+04	4,86	4,83	0,0003
18	2,60E+03	2,10E+03	3,41	3,32	0,0043
19	1,50E+03	9,00E+02	3,18	2,95	0,0246
20	2,60E+02	2,20E+02	2,41	2,34	0,0026
21	3,50E+02	2,20E+02	2,54	2,34	0,0203
22	6,40E+03	5,30E+03	3,81	3,72	0,0034
23	2,80E+04	3,70E+04	4,45	4,57	0,0073
24	1,60E+04	3,50E+04	4,20	4,54	0,0578
25	2,70E+04	9,50E+03	4,43	3,98	0,1029

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,118 (\log_{10}) \text{ soit } 1,31 \text{ ufc/g}$$

Annexe 2. Ecart-types de reproductibilité de la contamination du lait en poudre par les coliformes thermotolérants

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	1,80E+01	2,40E+01	1,26	1,38	0,0078
2	2,50E+01	3,00E+01	1,40	1,48	0,0031
3	3,40E+01	2,70E+01	1,53	1,43	0,0050
4	4,20E+01	3,00E+01	1,62	1,48	0,0107
5	4,00E+01	3,10E+01	1,60	1,49	0,0061
6	4,50E+01	3,20E+01	1,65	1,51	0,0110
7	5,60E+01	4,20E+01	1,75	1,62	0,0078
8	4,40E+01	5,70E+01	1,64	1,76	0,0063
9	2,30E+01	3,60E+01	1,36	1,56	0,0189
10	5,20E+01	3,70E+01	1,72	1,57	0,0109
11	4,40E+01	5,20E+01	1,64	1,72	0,0026
12	5,30E+01	4,70E+01	1,72	1,67	0,0014
13	2,00E+01	2,70E+01	1,30	1,43	0,0085
14	3,50E+01	3,00E+01	1,54	1,48	0,0022
15	4,40E+01	4,00E+01	1,64	1,60	0,0009
16	2,10E+01	1,80E+01	1,32	1,26	0,0022
17	1,70E+01	1,30E+01	1,23	1,11	0,0068
18	1,60E+01	2,40E+01	1,20	1,38	0,0155
19	1,30E+01	1,70E+01	1,11	1,23	0,0068
20	1,90E+01	2,50E+01	1,28	1,40	0,0071
21	2,40E+01	3,00E+01	1,38	1,48	0,0047
22	3,20E+01	2,40E+01	1,51	1,38	0,0078
23	2,80E+01	3,50E+01	1,45	1,54	0,0047
24	2,60E+01	2,40E+01	1,41	1,38	0,0006
25	3,00E+01	2,20E+01	1,48	1,34	0,0091

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,082 (\log_{10}) \text{ soit } 1,20 \text{ ufc/g}$$

Annexe 3. Ecart-types de reproductibilité de la contamination du lait en poudre par les SPP

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	5,00E+01	7,20E+01	1,70	1,86	0,0125
2	5,40E+01	7,40E+01	1,73	1,87	0,0094
3	3,30E+01	5,40E+01	1,52	1,73	0,0229
4	1,20E+02	9,20E+01	2,08	1,96	0,0067
5	4,50E+01	2,40E+01	1,65	1,38	0,0373
6	4,40E+01	6,30E+01	1,64	1,80	0,0122
7	4,50E+01	7,20E+01	1,65	1,86	0,0208
8	1,50E+01	2,70E+01	1,18	1,43	0,0326
9	2,50E+01	6,90E+01	1,40	1,84	0,0972
10	4,30E+01	6,00E+01	1,63	1,78	0,0105
11	8,00E+01	5,40E+01	1,90	1,73	0,0146
12	6,90E+01	8,10E+01	1,84	1,91	0,0024
13	8,10E+01	6,20E+01	1,91	1,79	0,0067
14	4,30E+01	5,40E+01	1,63	1,73	0,0049
15	2,60E+01	4,50E+01	1,41	1,65	0,0284
16	7,80E+01	8,90E+01	1,89	1,95	0,0016
17	5,10E+01	8,00E+01	1,71	1,90	0,0191
18	7,10E+01	9,20E+01	1,85	1,96	0,0063
19	5,60E+01	4,10E+01	1,75	1,61	0,0092
20	4,30E+01	5,90E+01	1,63	1,77	0,0094
21	3,00E+01	7,40E+01	1,48	1,87	0,0769
22	8,50E+01	1,20E+02	1,93	2,08	0,0112
23	4,50E+01	8,20E+01	1,65	1,91	0,0340
24	3,20E+01	5,20E+01	1,51	1,72	0,0222
25	3,70E+01	6,30E+01	1,57	1,80	0,0267

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,146(\log_{10}) \text{ soit } 1,40 \text{ ufc/g}$$

Annexe 4. . Ecart-types de reproductibilité de la contamination du lait en poudre par les ASR

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	8,00E+01	9,50E+01	1,90	1,98	0,0028
2	1,00E+02	1,12E+02	2,00	2,05	0,0012
3	4,50E+01	3,70E+01	1,65	1,57	0,0036
4	6,20E+01	5,90E+01	1,79	1,77	0,0002
5	6,40E+01	6,80E+01	1,81	1,83	0,0003
6	5,70E+01	4,50E+01	1,76	1,65	0,0053
7	4,30E+01	5,00E+01	1,63	1,70	0,0021
8	4,20E+01	3,70E+01	1,62	1,57	0,0015
9	6,80E+01	5,20E+01	1,83	1,72	0,0068
10	7,40E+01	5,40E+01	1,87	1,73	0,0094
11	6,50E+01	6,80E+01	1,81	1,83	0,0002
12	8,20E+01	6,20E+01	1,91	1,79	0,0074
13	4,20E+01	7,20E+01	1,62	1,86	0,0274
14	9,50E+01	1,02E+02	1,98	2,01	0,0005
15	6,00E+01	7,30E+01	1,78	1,86	0,0036
16	5,60E+01	6,00E+01	1,75	1,78	0,0004
17	7,60E+01	6,90E+01	1,88	1,84	0,0009
18	5,50E+01	6,00E+01	1,74	1,78	0,0007
19	4,00E+01	3,20E+01	1,60	1,51	0,0047
20	3,20E+01	4,60E+01	1,51	1,66	0,0124
21	6,40E+01	5,20E+01	1,81	1,72	0,0041
22	3,70E+01	4,30E+01	1,57	1,63	0,0021
23	5,20E+01	5,80E+01	1,72	1,76	0,0011
24	3,50E+01	4,50E+01	1,54	1,65	0,0060
25	2,40E+01	3,20E+01	1,38	1,51	0,0078

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,067(\log_{10}) \text{ soit } 1,16 \text{ ufc/g}$$

Annexe 5. . Ecart-types de reproductibilité de la contamination de la viande de buffle congelée par la FMAT

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	6,10E+04	6,20E+04	4,79	4,79	0,0000
2	6,90E+03	6,80E+03	3,84	3,83	0,0000
3	3,80E+05	3,70E+05	5,58	5,57	0,0001
4	3,50E+05	4,80E+05	5,54	5,68	0,0094
5	2,70E+03	3,20E+03	3,43	3,51	0,0027
6	1,30E+03	2,40E+03	3,11	3,38	0,0354
7	7,50E+05	4,20E+05	5,88	5,62	0,0317
8	3,20E+03	1,20E+03	3,51	3,08	0,0907
9	4,10E+03	3,20E+03	3,61	3,51	0,0058
10	4,40E+05	2,80E+05	5,64	5,45	0,0193
11	3,60E+03	6,70E+03	3,56	3,83	0,0364
12	9,30E+03	6,20E+03	3,97	3,79	0,0155
13	1,90E+03	2,70E+03	3,28	3,43	0,0116
14	6,10E+04	4,20E+04	4,79	4,62	0,0131
15	7,00E+02	5,70E+02	2,85	2,76	0,0040
16	8,40E+03	5,30E+03	3,92	3,72	0,0200
17	7,30E+03	5,20E+03	3,86	3,72	0,0109
18	2,30E+04	3,60E+04	4,36	4,56	0,0189
19	4,50E+04	5,70E+04	4,65	4,76	0,0053
20	1,60E+05	3,30E+05	5,20	5,52	0,0494
21	1,40E+04	2,30E+04	4,15	4,36	0,0232
22	3,50E+03	4,10E+03	3,54	3,61	0,0024
23	6,50E+03	7,40E+03	3,81	3,87	0,0016
24	5,00E+04	4,50E+04	4,70	4,65	0,0010
25	5,10E+03	8,40E+03	3,71	3,92	0,0235

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,191 (\log_{10}) \text{ soit } 1,93 \text{ ufc/g}$$

Annexe 6. Ecart-types de reproductibilité de la contamination de la viande de buffle congelée par les CTT.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	1,97E+03	2,10E+03	3,29	3,32	0,0004
2	8,10E+02	8,90E+02	2,91	2,95	0,0008
3	4,10E+01	6,20E+01	1,61	1,79	0,0161
4	1,50E+03	1,72E+03	3,18	3,24	0,0017
5	3,60E+02	2,90E+02	2,56	2,46	0,0044
6	3,85E+04	3,46E+04	4,59	4,54	0,0011
7	9,80E+03	9,58E+03	3,99	3,98	0,0000
8	7,20E+01	8,40E+01	1,86	1,92	0,0022
9	2,10E+02	1,70E+02	2,32	2,23	0,0042
10	1,59E+04	1,80E+04	4,20	4,26	0,0014
11	3,28E+03	3,50E+03	3,52	3,54	0,0004
12	9,48E+03	9,90E+03	3,98	4,00	0,0002
13	6,20E+02	8,40E+02	2,79	2,92	0,0087
14	5,10E+02	6,82E+02	2,71	2,83	0,0080
15	1,20E+03	1,80E+03	3,08	3,26	0,0155
16	7,20E+02	5,30E+02	2,86	2,72	0,0089
17	6,20E+02	6,97E+02	2,79	2,84	0,0013
18	1,54E+03	1,10E+03	3,19	3,04	0,0107
19	9,50E+03	9,20E+03	3,98	3,96	0,0001
20	2,77E+03	2,14E+03	3,44	3,33	0,0063
21	2,10E+02	2,63E+02	2,32	2,42	0,0048
22	7,80E+03	4,10E+03	3,89	3,61	0,0390
23	9,90E+01	1,70E+02	2,00	2,23	0,0276
24	2,10E+02	3,20E+02	2,32	2,51	0,0167
25	5,70E+03	5,40E+03	3,76	3,73	0,0003

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,083 (\log_{10}) \text{ soit } 1,21 \text{ ufc/g}$$

Annexe 7. Ecart-types de reproductibilité de la contamination de la viande de buffle congelée par les SPP

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	3,70E+03	3,20E+03	3,57	3,51	0,0020
2	2,50E+02	4,50E+02	2,40	2,65	0,0326
3	1,40E+04	1,78E+04	4,15	4,25	0,0053
4	3,45E+02	1,27E+02	2,54	2,10	0,0942
5	1,30E+03	1,87E+03	3,11	3,27	0,0124
6	2,56E+02	1,13E+02	2,41	2,05	0,0631
7	1,50E+04	1,46E+04	4,18	4,16	0,0001
8	7,98E+03	6,79E+03	3,90	3,83	0,0025
9	3,80E+02	7,89E+02	2,58	2,90	0,0503
10	1,40E+04	2,39E+04	4,15	4,38	0,0270
11	6,37E+03	5,68E+03	3,80	3,75	0,0013
12	5,67E+03	3,45E+03	3,75	3,54	0,0233
13	5,18E+03	6,80E+03	3,71	3,83	0,0070
14	9,50E+03	6,35E+03	3,98	3,80	0,0154
15	5,12E+02	9,86E+02	2,71	2,99	0,0405
16	7,89E+03	5,38E+03	3,90	3,73	0,0139
17	3,45E+02	5,63E+02	2,54	2,75	0,0226
18	1,46E+04	1,75E+04	4,16	4,24	0,0031
19	5,67E+02	9,87E+02	2,75	2,99	0,0290
20	3,54E+02	6,54E+02	2,55	2,82	0,0355
21	4,57E+02	7,86E+02	2,66	2,90	0,0277
22	2,87E+02	4,56E+02	2,46	2,66	0,0202
23	5,34E+02	7,84E+02	2,73	2,89	0,0139
24	2,18E+03	3,45E+03	3,34	3,54	0,0201
25	7,45E+03	8,64E+03	3,87	3,94	0,0021

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,150 (\log_{10}) \text{ soit } 1,41 \text{ ufc/g}$$

Annexe 8. Ecart-types de reproductibilité de la contamination de la viande de buffle congelée par les ASR.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	1,90E+03	1,85E+03	3,28	3,27	0,0001
2	4,80E+01	5,60E+01	1,68	1,75	0,0022
3	3,00E+01	4,50E+01	1,48	1,65	0,0155
4	9,80E+01	1,23E+02	1,99	2,09	0,0049
5	3,40E+01	2,40E+01	1,53	1,38	0,0114
6	4,50E+01	5,70E+01	1,65	1,76	0,0053
7	8,00E+03	7,54E+03	3,90	3,88	0,0003
8	2,20E+02	1,89E+02	2,34	2,28	0,0022
9	4,53E+02	3,45E+02	2,66	2,54	0,0070
10	6,00E+03	7,54E+03	3,78	3,88	0,0049
11	1,00E+02	9,60E+01	2,00	1,98	0,0002
12	7,50E+01	5,60E+01	1,88	1,75	0,0080
13	2,40E+01	3,90E+01	1,38	1,59	0,0222
14	1,00E+03	1,28E+03	3,00	3,11	0,0059
15	2,40E+01	1,90E+01	1,38	1,28	0,0051
16	6,00E+02	5,13E+02	2,78	2,71	0,0023
17	5,00E+01	3,60E+01	1,70	1,56	0,0102
18	5,30E+01	4,70E+01	1,72	1,67	0,0014
19	1,25E+02	1,13E+02	2,10	2,05	0,0010
20	5,30E+01	7,20E+01	1,72	1,86	0,0089
21	3,43E+02	3,67E+02	2,54	2,56	0,0004
22	3,59E+02	4,24E+02	2,56	2,63	0,0026
23	1,24E+02	1,85E+02	2,09	2,27	0,0151
24	5,20E+01	6,40E+01	1,72	1,81	0,0041
25	2,00E+01	3,50E+01	1,30	1,54	0,0295

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,088 (\log_{10}) \text{ soit } 1,21 \text{ ufc/g}$$

Annexe 9. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des foies de bœuf congelés par la FMAT.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	2,10E+02	2,78E+02	2,32	2,44	0,0074
2	3,10E+03	4,25E+03	3,49	3,63	0,0094
3	5,70E+04	4,30E+04	4,76	4,63	0,0075
4	2,45E+02	2,35E+02	2,39	2,37	0,0002
5	1,00E+03	9,87E+02	3,00	2,99	0,0000
6	3,00E+01	4,50E+01	1,48	1,65	0,0155
7	6,10E+03	5,44E+03	3,79	3,74	0,0013
8	2,30E+05	3,18E+04	5,36	4,50	0,3692
9	1,00E+03	1,35E+03	3,00	3,13	0,0085
10	3,00E+05	2,60E+05	5,48	5,41	0,0019
11	7,30E+02	5,34E+02	2,86	2,73	0,0092
12	1,00E+02	7,80E+01	2,00	1,89	0,0058
13	2,30E+03	2,48E+03	3,36	3,39	0,0005
14	1,70E+02	1,34E+02	2,23	2,13	0,0053
15	2,70E+03	3,24E+03	3,43	3,51	0,0032
16	1,70E+03	1,44E+03	3,23	3,16	0,0027
17	2,00E+02	1,35E+02	2,30	2,13	0,0146
18	5,00E+02	3,45E+02	2,70	2,54	0,0130
19	6,20E+02	6,80E+02	2,79	2,83	0,0008
20	1,20E+02	1,58E+02	2,08	2,20	0,0071
21	9,00E+01	1,35E+02	1,95	2,13	0,0155
22	1,60E+02	1,30E+02	2,20	2,11	0,0041
23	1,10E+02	1,56E+02	2,04	2,19	0,0115
24	3,50E+05	3,40E+05	5,54	5,53	0,0001
25	1,20E+04	1,15E+04	4,08	4,06	0,0002

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,149 (\log_{10}) \text{ soit } 1,89 \text{ ufc/g}$$

Annexe 10. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des foies de bœuf congelés par les CTT.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	9,50E+02	8,50E+02	2,98	2,93	0,0012
2	3,45E+02	3,95E+02	2,54	2,60	0,0017
3	2,30E+02	2,60E+02	2,36	2,41	0,0014
4	2,20E+02	2,80E+02	2,34	2,45	0,0055
5	4,67E+02	3,67E+02	2,67	2,56	0,0055
6	3,44E+02	2,80E+02	2,54	2,45	0,0040
7	4,58E+02	4,70E+02	2,66	2,67	0,0001
8	2,34E+02	3,46E+02	2,37	2,54	0,0144
9	1,57E+03	1,34E+03	3,20	3,13	0,0023
10	1,27E+03	1,46E+03	3,10	3,16	0,0018
11	1,46E+03	1,53E+03	3,16	3,18	0,0002
12	3,50E+02	2,70E+02	2,54	2,43	0,0064
13	1,25E+03	1,18E+03	3,10	3,07	0,0003
14	3,45E+02	2,50E+02	2,54	2,40	0,0098
15	4,56E+02	3,50E+02	2,66	2,54	0,0066
16	8,90E+02	7,20E+02	2,95	2,86	0,0042
17	7,20E+02	5,67E+02	2,86	2,75	0,0054
18	4,50E+02	5,60E+02	2,65	2,75	0,0045
19	4,57E+02	5,64E+02	2,66	2,75	0,0042
20	7,54E+02	8,90E+02	2,88	2,95	0,0026
21	1,25E+02	1,70E+02	2,10	2,23	0,0089
22	3,45E+02	2,70E+02	2,54	2,43	0,0057
23	3,90E+02	4,50E+02	2,59	2,65	0,0019
24	9,52E+02	4,53E+02	2,98	2,66	0,0520
25	8,45E+02	9,78E+02	2,93	2,99	0,0020

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,078 (\log_{10}) \text{ soit } 1,19 \text{ ufc/g}$$

Annexe 11. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des foies de bœuf congelés par les SPP.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	8,00E+01	1,27E+02	1,90	2,10	0,0201
2	7,40E+01	4,70E+01	1,87	1,67	0,0194
3	8,50E+01	4,30E+01	1,93	1,63	0,0438
4	1,35E+02	9,30E+01	2,13	1,97	0,0131
5	3,80E+02	5,84E+02	2,58	2,77	0,0174
6	3,45E+02	1,24E+02	2,54	2,09	0,0987
7	1,45E+02	3,07E+02	2,16	2,49	0,0531
8	3,50E+02	5,02E+02	2,54	2,70	0,0123
9	8,95E+02	9,47E+02	2,95	2,98	0,0003
10	1,15E+03	1,54E+03	3,06	3,19	0,0084
11	1,35E+03	1,68E+03	3,13	3,22	0,0044
12	3,50E+02	4,59E+02	2,54	2,66	0,0069
13	2,60E+02	4,12E+02	2,41	2,61	0,0200
14	3,45E+02	1,75E+02	2,54	2,24	0,0434
15	4,35E+02	6,34E+02	2,64	2,80	0,0134
16	4,58E+02	6,45E+02	2,66	2,81	0,0111
17	1,27E+02	2,37E+02	2,10	2,37	0,0367
18	5,50E+01	7,50E+01	1,74	1,88	0,0091
19	5,30E+01	8,70E+01	1,72	1,94	0,0232
20	4,50E+01	6,70E+01	1,65	1,83	0,0149
21	5,70E+01	8,40E+01	1,76	1,92	0,0142
22	3,60E+02	4,80E+02	2,56	2,68	0,0078
23	8,52E+02	1,22E+03	2,93	3,09	0,0120
24	3,45E+02	5,47E+02	2,54	2,74	0,0200
25	1,58E+02	2,62E+02	2,20	2,42	0,0241

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,148 (\log_{10}) \text{ soit } 1,40 \text{ ufc/g}$$

Annexe 12. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des foies de bœuf congelés par les ASR.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	2,50E+01	2,10E+01	1,40	1,32	0,0029
2	4,50E+01	3,50E+01	1,65	1,54	0,0060
3	7,50E+01	9,50E+01	1,88	1,98	0,0053
4	5,80E+01	7,40E+01	1,76	1,87	0,0056
5	9,70E+01	8,30E+01	1,99	1,92	0,0023
6	1,45E+02	1,74E+02	2,16	2,24	0,0031
7	2,45E+02	3,45E+02	2,39	2,54	0,0110
8	2,13E+02	1,56E+02	2,33	2,19	0,0091
9	1,27E+02	1,35E+02	2,10	2,13	0,0004
10	4,53E+02	5,17E+02	2,66	2,71	0,0016
11	2,36E+02	2,47E+02	2,37	2,39	0,0002
12	1,35E+02	1,53E+02	2,13	2,18	0,0015
13	1,67E+02	1,34E+02	2,22	2,13	0,0046
14	1,78E+02	1,56E+02	2,25	2,19	0,0016
15	1,24E+02	1,12E+02	2,09	2,05	0,0010
16	1,43E+02	1,64E+02	2,16	2,21	0,0018
17	1,67E+02	1,26E+02	2,22	2,10	0,0075
18	1,56E+02	1,64E+02	2,19	2,21	0,0002
19	7,90E+01	5,30E+01	1,90	1,72	0,0150
20	8,20E+01	7,20E+01	1,91	1,86	0,0016
21	7,60E+01	6,20E+01	1,88	1,79	0,0039
22	5,40E+01	3,20E+01	1,73	1,51	0,0258
23	4,30E+01	3,70E+01	1,63	1,57	0,0021
24	7,80E+01	5,40E+01	1,89	1,73	0,0128
25	9,00E+01	7,90E+01	1,95	1,90	0,0016

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,072 (\log_{10}) \text{ soit } 1,18 \text{ ufc/g}$$

Annexe 13. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des filets de poisson congelés par la FMAT.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	3,54E+04	3,95E+04	4,55	4,60	0,0011
2	6,90E+03	6,50E+03	3,84	3,81	0,0003
3	3,80E+05	3,84E+05	5,58	5,58	0,0000
4	1,50E+05	1,49E+05	5,18	5,17	0,0000
5	1,80E+03	1,71E+03	3,26	3,23	0,0002
6	1,35E+03	1,46E+03	3,13	3,16	0,0006
7	7,50E+05	7,50E+05	5,88	5,88	0,0000
8	3,20E+03	2,80E+03	3,51	3,45	0,0017
9	4,10E+03	1,10E+03	3,61	3,04	0,1632
10	4,20E+05	4,70E+05	5,62	5,67	0,0012
11	3,60E+03	2,75E+03	3,56	3,44	0,0068
12	9,30E+03	6,56E+03	3,97	3,82	0,0115
13	1,30E+03	1,76E+03	3,11	3,25	0,0087
14	6,10E+04	5,82E+03	4,79	3,76	0,5206
15	7,00E+02	4,20E+02	2,85	2,62	0,0246
16	8,30E+03	5,40E+03	3,92	3,73	0,0174
17	7,30E+03	9,45E+03	3,86	3,98	0,0063
18	3,00E+04	1,99E+04	4,48	4,30	0,0161
19	2,30E+04	1,84E+04	4,36	4,26	0,0047
20	1,60E+05	1,30E+05	5,20	5,12	0,0040
21	1,20E+04	1,69E+04	4,08	4,23	0,0110
22	2,40E+03	3,50E+03	3,38	3,54	0,0134
23	4,10E+03	5,60E+03	3,61	3,75	0,0092
24	5,60E+03	4,58E+03	3,75	3,66	0,0038
25	4,80E+03	6,85E+03	3,68	3,84	0,0119

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,189 (\log_{10}) \text{ soit } 1,52 \text{ ufc/g}$$

Annexe 14. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des filets de poisson congelés par les CTT.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	1,90E+03	2,20E+03	3,28	3,34	0,0020
2	2,10E+02	3,05E+02	2,32	2,48	0,0131
3	4,05E+02	6,34E+02	2,61	2,80	0,0189
4	6,04E+02	9,30E+02	2,78	2,97	0,0176
5	1,45E+02	2,09E+02	2,16	2,32	0,0126
6	2,70E+02	1,23E+02	2,43	2,09	0,0583
7	4,57E+02	5,78E+02	2,66	2,76	0,0052
8	4,45E+02	6,43E+02	2,65	2,81	0,0128
9	1,54E+04	1,46E+04	4,19	4,16	0,0003
10	1,60E+04	1,36E+04	4,20	4,13	0,0026
11	1,71E+04	1,46E+04	4,23	4,16	0,0024
12	1,20E+04	8,44E+03	4,08	3,93	0,0120
13	2,30E+04	2,75E+04	4,36	4,44	0,0029
14	5,30E+02	3,45E+02	2,72	2,54	0,0174
15	1,50E+04	1,25E+04	4,18	4,10	0,0033
16	4,00E+02	6,25E+02	2,60	2,80	0,0188
17	5,41E+03	3,57E+03	3,73	3,55	0,0163
18	1,60E+03	1,26E+03	3,20	3,10	0,0055
19	7,51E+03	7,21E+03	3,88	3,86	0,0002
20	2,40E+03	1,99E+03	3,38	3,30	0,0034
21	2,70E+02	3,45E+02	2,43	2,54	0,0057
22	3,45E+02	4,32E+02	2,54	2,64	0,0048
23	1,45E+02	1,56E+02	2,16	2,19	0,0005
24	7,69E+03	7,95E+03	3,89	3,90	0,0001
25	3,75E+02	3,80E+02	2,57	2,58	0,0000

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,097 (\log_{10}) \text{ soit } 1,25 \text{ ufc/g}$$

Annexe 15. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des filets de poisson congelés par les SPP.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	3,70E+03	4,50E+03	3,57	3,65	0,0036
2	3,00E+02	4,57E+02	2,48	2,66	0,0167
3	1,40E+04	1,70E+04	4,15	4,23	0,0037
4	2,00E+02	3,78E+02	2,30	2,58	0,0382
5	1,30E+03	1,46E+03	3,11	3,16	0,0012
6	8,89E+03	5,68E+03	3,95	3,75	0,0190
7	1,50E+04	1,14E+04	4,18	4,06	0,0069
8	4,57E+03	7,55E+03	3,66	3,88	0,0238
9	4,00E+02	9,86E+02	2,60	2,99	0,0768
10	1,40E+04	1,76E+04	4,15	4,24	0,0048
11	4,54E+03	6,56E+03	3,66	3,82	0,0129
12	9,87E+02	2,23E+03	2,99	3,35	0,0629
13	4,67E+02	8,76E+02	2,67	2,94	0,0373
14	9,50E+03	4,66E+03	3,98	3,67	0,0479
15	5,68E+03	8,91E+03	3,75	3,95	0,0191
16	5,63E+03	2,35E+03	3,75	3,37	0,0724
17	5,67E+03	2,37E+03	3,75	3,37	0,0721
18	9,00E+03	1,74E+04	3,95	4,24	0,0412
19	5,64E+03	2,46E+03	3,75	3,39	0,0653
20	3,45E+02	1,23E+02	2,54	2,09	0,1003
21	5,56E+03	3,76E+03	3,75	3,58	0,0144
22	6,65E+03	9,78E+03	3,82	3,99	0,0140
23	3,53E+03	6,56E+03	3,55	3,82	0,0362
24	3,32E+03	8,76E+03	3,52	3,94	0,0888
25	1,79E+03	1,23E+03	3,25	3,09	0,0130

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,189 (\log_{10}) \text{ soit } 1,54 \text{ ufc/g}$$

Annexe 16. Ecart-types de reproductibilité de la contamination des filets de poisson congelés par les ASR.

<i>l</i>	X_{iA}	X_{iB}	$Y_{iA}=\log_{10}(X_{iA})$	$Y_{iB}=\log_{10}(X_{iB})$	$(Y_{iA}-Y_{iB})^2/2$
1	5,65E+03	5,45E+03	3,75	3,74	0,0001
2	2,23E+03	3,45E+03	3,35	3,54	0,0178
3	1,58E+04	1,79E+04	4,20	4,25	0,0015
4	6,45E+03	3,54E+03	3,81	3,55	0,0339
5	1,18E+03	1,15E+03	3,07	3,06	0,0000
6	4,58E+03	5,40E+03	3,66	3,73	0,0026
7	9,75E+03	7,75E+03	3,99	3,89	0,0049
8	4,35E+03	5,64E+03	3,64	3,75	0,0064
9	4,67E+03	5,67E+03	3,67	3,75	0,0036
10	6,45E+03	7,50E+03	3,81	3,88	0,0021
11	4,32E+02	6,70E+02	2,64	2,83	0,0182
12	5,80E+02	8,15E+02	2,76	2,91	0,0109
13	4,94E+02	5,80E+02	2,69	2,76	0,0024
14	1,76E+03	1,97E+03	3,25	3,29	0,0012
15	6,88E+04	8,92E+04	4,84	4,95	0,0064
16	5,64E+03	4,67E+03	3,75	3,67	0,0033
17	4,53E+03	3,46E+03	3,66	3,54	0,0069
18	3,46E+04	3,68E+04	4,54	4,57	0,0004
19	4,57E+04	4,68E+04	4,66	4,67	0,0001
20	4,24E+04	4,37E+04	4,63	4,64	0,0001
21	6,54E+04	6,37E+04	4,82	4,80	0,0001
22	5,64E+04	3,57E+04	4,75	4,55	0,0198
23	2,36E+04	2,18E+04	4,37	4,34	0,0006
24	5,51E+04	3,57E+04	4,74	4,55	0,0177
25	1,26E+04	1,38E+04	4,10	4,14	0,0008

$$s_R = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}} = 0,080 (\log_{10}) \text{ soit } 1,20 \text{ ufc/g}$$