



**Méthodes alternatives d'analyse pour l'agroalimentaire
Performances analytiques certifiées**

**ATTESTATION DE VALIDATION DE METHODE ALTERNATIVE D'ANALYSE
SUIVANT LA NORME NF EN ISO 16140 : 2003**

N° attestation : BIO 12/15 – 09/05

Date de validation :	19.09.2005
Date de reconduction :	03.07.2009
Date d'extension :	24.09.2009
Fin de validité :	19.09.2013

La Société
(siège social, distributeur
et site de production)

BIOMERIEUX
69280 MARCY L'ETOILE
FRANCE

est autorisée à faire référence à la marque **AFNOR VALIDATION** pour la méthode alternative quantitative d'analyse ci-dessous :

TEMPO® TVC

Méthode validée pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile dans les produits alimentaires

Référence du protocole : Réf. 80 007 - 12600 version G

DOMAINE D'APPLICATION

Tous produits d'alimentation humaine et aliments pour animaux de compagnie
A l'exclusion du lait cru, des boissons et de l'alimentation du bétail.

RESTRICTIONS EVENTUELLES D'EMPLOI

Aucune

METHODE DE REFERENCE

NF EN ISO 4833 (février 2003) : Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes - Technique de comptage des colonies à 30° C

**Le Directeur Général Délégué
Jacques BESLIN**

AFNOR Certification

11, rue Francis de Pressensé – 93571 La Plaine Saint-Denis Cedex - France
Tél +33 (0)1 41 62 80 00 – Fax +33 (0)1 49 17 90 00
certification@afnor.org - www.afnor-validation.org

PRINCIPE DE LA METHODE

TEMPO TVC est un test automatisé sur le système TEMPO, permettant de dénombrer la flore aérobie mésophile dans les produits alimentaires (sauf produits exclus du domaine d'application ci-après).

Le système TEMPO est composé de deux postes d'activité distincts :

- Un poste de préparation pour l'ensemencement, avec distribution d'un échantillon alimentaire dilué dans un flacon de milieu de culture, puis remplissage et scellage des cartes TEMPO au moyen du TEMPO Filler.
- Un poste de lecture pour effectuer la lecture et l'interprétation des cartes TEMPO par l'intermédiaire du TEMPO Reader.

Au cours de l'incubation, les germes présents dans la carte dégradent le ou les substrats du milieu de culture et permettent l'apparition d'un signal fluorescent détecté par le TEMPO Reader. En fonction du nombre et de la taille des puits positifs, le système TEMPO déduit le nombre de germes présents au départ dans l'échantillon selon un calcul basé sur la technique NPP (Nombre le Plus Probable).

NOTE (historique validation)

1/ Recondution de juillet 2009

Aucun essai complémentaire n'a été réalisé, la méthode TEMPO TVC n'ayant pas subi de modification et la méthode de référence et le protocole de validation n'ayant pas changé.

2/ Extension de septembre 2009

De nouveaux essais ont permis de valider la possibilité de différer la lecture des cartes TEMPO TVC après incubation, en les réfrigérant à 2-8°C jusqu'à 48h. Les résultats obtenus à 24h et à 48h de réfrigération sont comparables à ceux obtenus sans réfrigération. Les résultats ne sont pas présentés dans cette attestation.

LINEARITE et EXACTITUDE relative

Comparaison des performances de la méthode alternative et de la méthode de référence

Etude de linéarité :

Des essais ont été effectués en 2005 sur les 5 combinaisons matrice/souche et dans les catégories d'aliments figurant dans le tableau ci-dessous.

Les échantillons ont été analysés **en double** par chacune des **deux méthodes**, aux cinq niveaux de contamination artificielle suivants : 100, 500, 1000, 5000, 10 000 UFC/g.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Catégorie d'aliments	Couple matrice/souche	Droite de régression
Produits carnés	Pâté de porc / <i>Enterobacter agglomerans</i>	$Y = 1.018 X + 0.141$
Aliments pour animaux de compagnie	Bouchées pour chat / <i>Bacillus cereus</i>	$Y = 1.137 X - 0.398$
Produits végétaux	Haricots verts / <i>Xanthomonas maltophilia</i>	$Y = 1.101 X - 0.282$
Produits laitiers	Crème pâtissière / <i>Staphylococcus aureus</i>	$Y = 1.012 X + 0.023$
Produits de la mer	Pavé de saumon / <i>Listeria seeligeri</i>	$Y = 1.046 X - 0.136$

$Y = \log(N \text{ méthode alternative})$

$X = \log(N \text{ méthode de référence})$

Etude d'exactitude :

Des essais ont été effectués en 2005. L'exploitation statistique a porté sur 50 résultats interprétables provenant de 50 échantillons naturellement contaminés, appartenant aux grandes catégories d'aliments suivantes :

Produits carnés dont volailles, aliments pour animaux de compagnie, produits végétaux, produits laitiers, produits de la mer.

Les échantillons ont été analysés **en double** par chacune des **deux méthodes**.

A titre indicatif, les domaines de contamination (concentration) étaient les suivants :

Catégorie d'aliments	Domaine de contamination (log UFC/g)
Produits carnés	2,23 à 6,57
Aliments pour animaux de compagnie	1,00 à 5,36
Produits végétaux	1,95 à 4,64
Produits laitiers	1,00 à 4,70
Produits de la mer	1,32 à 6,32

L'équation de la droite de régression entre la méthode alternative et la méthode de référence, toutes catégories confondues, est la suivante :

$$Y = 1,030 X - 0,230 \text{ (40 heures d'incubation)}$$

$$Y = 1,036 X - 0,178 \text{ (48 heures d'incubation)}$$

Y = log(N méthode alternative)
X = log(N méthode de référence)

La répétabilité pour les deux méthodes et le biais entre les deux méthodes ont été déterminés selon le mode de calcul utilisé pour l'étude collaborative (Cf. §6.3.5 et §6.3.6 de la norme NF EN ISO 16140). Ces résultats apportent une information complémentaire pour le critère exactitude.

Les limites de répétabilité (en log) obtenues pour la méthode alternative et la méthode de référence sont les suivantes :

Méthode alternative	Méthode de référence
r = 0,528	r = 0,235

Le biais (en log) entre les deux méthodes (méthode alternative – méthode de référence) varie entre - 0,080 et 0,040 log UFC/g, selon la durée d'incubation des cartes TEMPO TVC, et est considéré comme non significatif.

Conclusion pour la linéarité et l'exactitude relative :

Les études de linéarité et d'exactitude montrent que les résultats obtenus avec la méthode TEMPO TVC sont comparables aux résultats obtenus avec la méthode de référence NF EN ISO 4833, avec toutefois une limite de répétabilité de la méthode alternative supérieure à celle de la méthode de référence

PRATICABILITE

- **Délai d'obtention des résultats** : l'obtention des résultats **positifs** et **négatifs** se fait en 40 heures avec la méthode alternative contre 72 heures avec la méthode de référence.
- **Gain de temps important au niveau de l'analyse et de la lecture** : avec TEMPO seulement 4 minutes sont nécessaire à l'analyse d'un échantillon, issu d'une série de 20, contre 14 minutes avec la méthode de référence.
- **Gain de temps de formation** : La durée de formation d'un opérateur, au test TEMPO TVC nécessite moins d'une journée.
- **Gain de place à l'incubation des cartes TEMPO et gestion facilitée des déchets** : le volume des consommables pour la méthode TEMPO TVC est négligeable par rapport au volume des consommables nécessaires pour la méthode ISO 4833.
- **Traçabilité complète de l'analyse** assurée du poste de préparation des échantillons jusqu'au rendu de résultats par le TEMPO Reader.

ETUDE INTERLABORATOIRE

L'étude interlaboratoire a été réalisée en 2005 avec 13 laboratoires collaborateurs. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de lait UHT, contaminés artificiellement avec une souche d'*Enterobacter cloacae* aux 4 niveaux suivants :

- inférieur à 10 UFC/ml
- 100 à 1000 UFC/ml
- 1000 à 10 000 UFC/ml
- 10 000 à 100 000 UFC/ml

Les laboratoires ont testé, par chacune des **deux méthodes**, **deux réplicats** par niveau de contamination.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Niveau de contamination	Nombre de résultats exploités*	Méthode de référence		Méthode alternative		
		Répétabilité r	Reproductibilité R	Répétabilité r	Reproductibilité R	Biais
Niveau 1	9	0,445	0,580	0,621	0,621	0,10
Niveau 2	9	0,182	0,345	0,458	0,690	0,09
Niveau 3	8	0,08	0,288	0,473	0,514	0,2

* Les résultats de trois laboratoires ont été exclus de l'interprétation car l'analyse a été réalisée hors délai.

* Les résultats d'un quatrième laboratoire ont été exclus de l'interprétation car il n'a pas respecté le protocole de la méthode de référence.

* Un laboratoire n'a pas fourni de résultats pour le niveau 3.

Conclusion de l'étude interlaboratoire

Les limites de répétabilité et de reproductibilité de la méthode TEMPO TVC apparaissent légèrement supérieures à celles de la méthode de référence, mais restent toutefois d'ordre similaire.

Il est souhaitable d'adresser à AFNOR Certification
toute réclamation concernant les performances de la méthode validée

Vous trouverez le document de synthèse des études préliminaire et interlaboratoire
sur le site www.afnor-validation.org