



**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-12/24- 03/08

Date de validation : 27.03.2008

Fin de validité : 27.03.2012

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

BIOMERIEUX
Chemin de l'Orme
69280 MARCY L'ETOILE

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

Gélose chromID™ Ottaviani Agosti
pour le dénombrement des *Listeria monocytogenes*

Référence du protocole : 12695 G

DOMAINE D'APPLICATION

Tous produits d'alimentation humaine.

RESTRICTIONS EVENTUELLES D'EMPLOI

Aucune.

METHODE(S) DE REFERENCE

EN ISO 11290-2 (1998) incluant l'**amendement A1** (2004) : Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Listeria monocytogenes* – Partie 2 : Méthode de dénombrement.

Le Directeur Général Délégué
Jacques BESLIN

PRINCIPE DE LA METHODE

La gélose chromID™ Ottaviani Agosti (OAA) est un milieu chromogène permettant un isolement différentiel de *Listeria monocytogenes* qui est constitué d'une base nutritive associant différentes peptones et de deux substrats dont un chromogène.

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 2007 sur les 5 combinaisons produit alimentaire/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 :

- 0
- 100
- 500
- 5 000
- 50 000

Les résultats obtenus sont les suivants :

Catégorie d'aliments	Couple matrice/souche	Droite de régression
Produits carnés	Rillettes / <i>Listeria monocytogenes</i> Ad	$Y = 0,9746 X + 0,0956$
Produits laitiers	Lait cru / <i>Listeria monocytogenes</i> 4b	$Y = 0,9838 X + 0,1116$
Produits de la mer	Saumon fumé / <i>Listeria monocytogenes</i>	$Y = 0,9801 X + 0,0836$
Végétaux	Chou blanc / <i>Listeria monocytogenes</i>	$Y = 1,0122 X - 0,031$
Ovoproduits	Coule d'œuf crue / <i>Listeria monocytogenes</i> Ad	$Y = 1,0157 X - 0,0729$

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

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

Etude d'exactitude :

Des essais ont été effectués en 2007. L'exploitation statistique a porté sur 77 résultats interprétables provenant de 8 échantillons naturellement contaminés et 69 artificiellement contaminés, appartenant aux grandes catégories d'aliments suivantes :

Produits carnés, produits laitiers, produits de la mer, produits végétaux et ovoproduits.

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)*
Produits carnés	1,51 à 6,72
Produits laitiers	1,93 à 4,99
Produits de la mer	2,20 à 5,61
Produits végétaux	2,41 à 4,90
Ovoproduits	1,96 à 4,86

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

$$\text{Equation de la droite : } Y = 0,9878 X + 0,0436$$

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

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

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

La limite de répétabilité (en log) obtenue pour la méthode alternative est de 0,264
La limite de répétabilité (en log) obtenue pour la méthode de référence est de 0,205

Le biais (en log) entre les deux méthodes (alternative – référence) est le suivant :

$D = -0,005$ si on prend la moyenne des biais individuels.

Conclusion pour la linéarité et l'exactitude relative :

Les études de linéarité et d'exactitude montrent que les résultats obtenus avec la méthode alternative sont comparables aux résultats obtenus avec la méthode de référence.

SELECTIVITE (INCLUSIVITE/EXCLUSIVITE)

Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement

- 50 souches de *Listeria monocytogenes* ont été détectées sur 50 testées.
- L'étude de 18 souches non *Listeria* n'a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.
- 16 souches de *Listeria* non *monocytogenes* se sont toutes développées en donnant des colonies bleues sans halo, à l'exception de 3 souches de *Listeria ivanovii* (sur 3 testées) qui ont donné des colonies caractéristiques avec halo.
- Ces 3 souches ont également donné des colonies caractéristiques sur les milieux de la méthode de référence.

PRATICABILITE

Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement

- **Délai d'obtention des résultats :**
 - L'obtention des résultats **positifs** se fait en deux à trois jours avec la méthode alternative contre quatre à sept jours avec la méthode de référence.
 - L'obtention des résultats **négatifs** se fait en deux jours avec la méthode alternative et la méthode de référence.

ETUDE INTERLABORATOIRE

L'étude interlaboratoire a été réalisée en 2008 avec douze laboratoires collaborateurs. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de lait pasteurisé, contaminés artificiellement avec une souche de sérotype *Listeria monocytogenes* aux 4 niveaux suivants :

- 0 UFC/ml
- 100 UFC/ml
- 1 000 UFC/ml
- 10 000 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 laboratoires donnant des résultats exploitables	Méthode de référence		Méthode alternative		
		Répétabilité r	Reproductibilité R	Répétabilité r	Reproductibilité R	Biais
Niveau 1	96	0,213	0,333	0,359	0,402	-0,02
Niveau 2	96	0,065	0,175	0,231	0,312	0,00
Niveau 3	96	0,122	0,187	0,247	0,282	0,01

Conclusion

L'étude interlaboratoire montre que les résultats obtenus avec la méthode alternative sont comparables à ceux obtenus avec la méthode de référence.

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