



**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
Date de reconduction :	02.02.2012
Fin de validité :	27.03.2016

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

**bioMérieux**  
Chemin de l'Orme  
69280 MARCY L'ETOILE

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

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

Référence du protocole : Réf. 43 641 et 43 649 - 12695 version H

**DOMAINE D'APPLICATION**

Tous produits d'alimentation humaine.

**RESTRICTIONS**

Aucune.

**METHODE DE REFERENCE**

NF EN ISO 11290-2 (Août 1998) incluant l'amendement A1 (Février 2005) : Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des *Listeria monocytogenes* – Partie 2 : Méthode de dénombrement.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Florence Méaux'.

**Directrice Générale  
Florence MÉAUX**



## 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.

### NOTE (historique de validation)

Dans le cadre de l'étude de reconduction de février 2012, les résultats de l'étude interlaboratoire obtenus en 2008 ont été réinterprétés selon la norme NF EN ISO 16140/A1. Les nouveaux résultats disponibles dans la présente attestation ne modifient pas la conclusion de l'étude. La méthode alternative et la méthode de référence restent inchangées.

### 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 et 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 669	Y = 0,9746 X + 0,0956
Produits laitiers	Lait cru/ <i>Listeria monocytogenes</i> 4b 153	Y = 0,9838 X + 0,1116
Produits de la mer	Saumon fumé/ <i>Listeria monocytogenes</i> 850/109	Y = 0,9801 X + 0,0836
Végétaux	Chou blanc/ <i>Listeria monocytogenes</i> 1/2 1011/1410	Y = 1,0122 X - 0,0310
Ovoproducts	Coule d'œuf crue/ <i>Listeria monocytogenes</i> Ad 551	Y = 1,0157 X - 0,0729

Y = log(N méthode alternative)

X = log(N 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 ovoproducts.

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
Ovoproducts	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 :

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

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

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

Les écarts type de répétabilité pour les deux méthodes et le biais entre les deux méthodes ont été déterminés selon le mode de calcul utilisé pour l'étude interlaboratoire (Cf. § 6.3.5 et § 6.3.6 de la norme NF EN ISO 16140/A1). Ces résultats apportent une information complémentaire pour le critère exactitude

L'écart type de répétabilité (en log) obtenue pour la méthode alternative est de 0,094.  
L'écart type de répétabilité (en log) obtenue pour la méthode de référence est de 0,073.

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

$$D = -0,005 \log \text{UFC/g}, \text{ si on prend la moyenne des biais individuels.}$$

#### ***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 œuvre de la méthode alternative seulement**

- 50 souches de *Listeria monocytogenes* ont été détectées sur 50 testées.
- 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.
- L'étude de 18 souches non *Listeria* n'a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.

### **PRATICABILITE**

#### **Mise en œuvre 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 :

- Niveau 0 : 0 UFC/mL
- Niveau 1 : 100 UFC/mL
- Niveau 2 : 1 000 UFC/mL
- Niveau 3 : 10 000 UFC/mL

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

Les résultats obtenus, calculés conformément à la norme NF EN ISO 16140/A1, sont les suivants :

Niveau de contamination	Nombre de laboratoires avec résultats exploitables	Méthode de référence		Méthode alternative		
		Ecart type de Répétabilité $S_r$	Ecart type de Reproductibilité $S_R$	Ecart type de Répétabilité $S_r$	Ecart type de Reproductibilité $S_R$	Biais
Niveau 1	12	0,076	0,107	0,143	0,150	0,009
Niveau 2	12	0,030	0,072	0,078	0,107	0,000
Niveau 3	12	0,056	0,075	0,094	0,094	0,011

Note : Limite de répétabilité  $r = 2,8 S_r$ , avec  $S_r$  : écart-type de répétabilité  
 Limite de reproductibilité  $R = 2,8 S_R$ , avec  $S_R$  : écart-type de reproductibilité

### 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](http://www.afnor-validation.org)