

Contacts:

**Stéphanie SAMMARTANO**  
Ingénieure certification Senior  
[stephanie.sammartano@afnor.org](mailto:stephanie.sammartano@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

**Jérôme FAYOL**  
Chargé de clientèle  
[jerome.fayol@afnor.org](mailto:jerome.fayol@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Réf.: SSO/SSO/NF102/Clients/BIO-RAD/  
Avis BT\_RAPID'Staph\_2017-11-22 (P3).docx

**Objet : Marque NF VALIDATION**

**BIO-RAD**  
**Monsieur Yannick BICHOT**  
3, Boulevard Raymond Poincaré  
92430 MARNES LA COQUETTE

La Plaine Saint-Denis, le 22 novembre 2017

Monsieur,

Le droit d'usage de la marque NF VALIDATION de la méthode alternative suivante :

<b>RAPID'Staph</b>	<b>Réf. BRD 07/09-02/05</b>
--------------------	-----------------------------

devait arriver à expiration le 4 février 2017, avant que les résultats de l'étude de reconduction ne puissent être présentés au Bureau Technique "Agroalimentaire" de la marque NF VALIDATION (NF102).

**C'est pourquoi, sur avis positif du Bureau Technique concerné, je vous accorde une prolongation du droit d'usage de la marque NF VALIDATION pour cette méthode jusqu'au 30 mars 2018.**

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.



Directeur Général  
Franck LEBEUGLE



Contacts:

**Stéphanie SAMMARTANO**  
Ingénieure certification Senior  
[stephanie.sammartano@afnor.org](mailto:stephanie.sammartano@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

**Jérôme FAYOL**  
Chargé de clientèle  
[jerome.fayol@afnor.org](mailto:jerome.fayol@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Réf.: SSO/JFY/NF102/Clients/BIO-RAD/  
Avis BT\_Prolongation RAPID'Staph\_2017-07-04

Objet : **Marque NF VALIDATION**

**BIO-RAD**  
**Monsieur Yannick BICHOT**  
3, Boulevard Raymond Poincaré  
92430 MARNES LA COQUETTE

La Plaine Saint-Denis, le 4 juillet 2017

Monsieur,

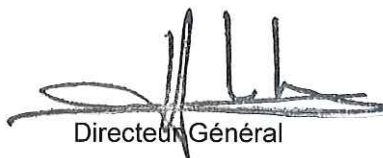
Le droit d'usage de la marque NF VALIDATION de la méthode d'analyse suivante :

<b>RAPID'Staph</b>	<b>Réf. BRD 07/09-02/05</b>
--------------------	-----------------------------

arrivera à expiration le 30 septembre 2017 avant que les résultats de l'étude de reconduction ne puissent être présentés au Bureau Technique "Microbiologie agroalimentaire" de la marque NF VALIDATION (NF102).

**C'est pourquoi, sur avis positif du Bureau Technique concerné, je vous accorde une prolongation du droit d'usage de la marque NF VALIDATION pour cette méthode jusqu'au 24 novembre 2017.**

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.



Directeur Général  
Franck LEBEUGLE



Contacts:

**Stéphanie SAMMARTANO**  
Ingénieure certification Senior  
[stephanie.sammartano@afnor.org](mailto:stephanie.sammartano@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

**Jérôme FAYOL**  
Chargé de clientèle  
[jerome.fayol@afnor.org](mailto:jerome.fayol@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Réf.: SSO/JFY/NF102/Clients/BIO-RAD/  
Avis BT\_Prolongation RAPID'Staph\_2017-01-27

Objet : **Marque NF VALIDATION**

**BIO-RAD**  
**Monsieur Yannick BICHOT**  
3, Boulevard Raymond Poincaré  
92430 MARNES LA COQUETTE

La Plaine Saint-Denis, le 27 janvier 2017

Monsieur,

Le droit d'usage de la marque NF VALIDATION de la méthode d'analyse suivante :

<b>RAPID' Staph</b>	<b>Réf. BRD 07/09-02/05</b>
---------------------	-----------------------------

arrivera à expiration le 4 février 2017 avant que les résultats de l'étude de reconduction ne puissent être présentés au Bureau Technique "Microbiologie agroalimentaire" de la marque NF VALIDATION (NF102).

**C'est pourquoi, sur avis positif du Bureau Technique concerné, je vous accorde une prolongation du droit d'usage de la marque NF VALIDATION pour cette méthode jusqu'au 30 septembre 2017.**

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.



Directeur Général  
Franck LEBEUGLE



Contacts :

**Stéphanie SAMMARTANO**  
Ingénieure Certification  
[stephanie.sammartano@afnor.org](mailto:stephanie.sammartano@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 62 39

**Audrey VERNEL**  
Chargée de clientèle  
[audrey.vernel@afnor.org](mailto:audrey.vernel@afnor.org)  
Tél : +33 (0)1 41 62 60 63

Réf. : SSO/AYV/NF102/Clients/Bio-Rad/  
Avis BT\_RAPID'Staph\_31-01-2013 (R2)

**BIO-RAD**  
**Monsieur Yannick BICHOT**  
**3 Bd Raymond Poincaré**  
**92430 MARNES LA COQUETTE**

Objet : NF VALIDATION

La Plaine Saint-Denis, le mercredi 6 février 2013

Monsieur,

Comme suite à l'avis positif exprimé le 31 janvier 2013 par le Bureau Technique "Microbiologie" de la marque NF VALIDATION, dans son application à l'agroalimentaire, j'ai l'honneur de vous annoncer que le **droit d'usage de la marque NF VALIDATION est reconduit** pour la méthode alternative d'analyse suivante :

### **RAPID' Staph**

Validée pour le dénombrement des *Staphylocoques* à coagulase positive dans tous les produits d'alimentation humaine et animale et les échantillons d'environnement

Certifiée sous le n° d'attestation BRD 07/09 - 02/05, avec pour fin de validité le 04-fév-2017

Un courrier complet de conclusions mentionnant d'éventuelles réserves prononcées par le Bureau Technique, vous sera adressé prochainement. Dans ce cas, celles-ci devront être prises en compte sans délai.

Je vous prie d'agréer, Monsieur, mes salutations distinguées.

**Directrice Générale**  
**Florence MÉAUX**





**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 : BRD – 07/09 – 02/05

Date de validation : 04.02.2005  
Date de reconduction : 27.01.2009  
Fin de validité : 04.02.2013

**La Société**                      **Bio-Rad**  
(siège social)                    3, Boulevard Raymond Poincaré  
    92430 MARNES LA COQUETTE  
    FRANCE

**Site de**                              même adresse  
**production**

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

**RAPID' Staph**

**Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive**

**Référence du protocole :**      RAPID' Staph/Gélose (356-4704 / 356-3960) – V3

**DOMAINE D'APPLICATION**

Tous produits d'alimentation humaine et animale et échantillons d'environnement.

**RESTRICTIONS EVENTUELLES D'EMPLOI**

Il existe quelques souches de *Staphylococcus aureus* non caractéristiques ne réduisant pas le tellurite et/ou ne protéolysant pas le jaune d'œuf.

**METHODE DE REFERENCE**

**NF EN ISO 6888-1 (1999)** – Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker.

**Le Directeur Général Délégué  
Jacques BESLIN**

## PRINCIPE DE LA METHODE

Le RAPID'*Staph* est composé d'un milieu de culture basé sur une formule Baird-Parker optimisée pour permettre l'obtention des résultats en 24h. Son principe repose sur l'aptitude des *Staphylococcus aureus* à réduire le tellurite (colonies noires) et à entraîner la protéolyse du jaune d'œuf (halo clair autour des colonies). Le test RAPID'*Staph* est utilisé pour dénombrer les staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) à 37°C en 24 heures. La confirmation s'effectue par un test latex PASTOREX® STAPH-PLUS ou sur gélose Baird-Parker + RPF précoulée.

## 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 2004 sur les 6 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 : 10 à 50, 50 à 100, 100 à 500, 500 à 1 000, 1 000 à 10 000 UFC/g.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Catégorie d'aliments	Couple matrice/souche	Droite de régression
Produits carnés	Steak haché / <i>S. aureus</i> Ad 160	$y = -0,34 + 1,12 x$
Aliments pour animaux	Saucisson pour chien / <i>S. aureus</i> Ad 162	$y = 0,07 + 0,97 x$
Produits laitiers	Lait cru / <i>S. aureus</i> Ad 501	$y = -0,04 + 1,01 x$
Produits de la mer	Poisson cru congelé / <i>S. aureus</i> Ad 154	$y = -0,22 + 1,06 x$
Divers	Coule d'œuf / <i>S. aureus</i> Ad 159	$y = -0,18 + 0,97 x$
Echantillons d'environnement	Eau de rinçage / <i>S. aureus</i> A00M071	$y = -0,23 + 1,06 x$

$y = \log(N \text{ méthode alternative})$   
 $x = \log(N \text{ méthode de référence})$

### Etude d'exactitude :

Des essais ont été effectués en 2004. L'interprétation statistique a porté sur 50 résultats dont 35 échantillons naturellement contaminés et 15 artificiellement contaminés, appartenant aux six grandes catégories d'aliments suivantes : produits carnés, aliments pour animaux, produits laitiers, produits de la mer, divers, échantillons d'environnement

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
Produits carnés	1,19 log à 4,76 log
Aliments pour animaux	1,54 log à 3,95 log
Produits laitiers	1,24 log à 5,76 log
Produits de la mer	0,70 log à 3,88 log
Divers	0,94 log à 4,10 log
Echantillons de l'environnement	1,30 log à 4,95 log

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

$$y = - 0,21 + 1,03 x$$

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

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

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

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

Méthode alternative	Méthode de référence
$r = 0,294$	$r = 0,250$

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

$$D = 0,05 \log \text{ UFC/g}$$

#### **Conclusion pour la linéarité et l'exactitude relative :**

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

### **SELECTIVITE (INCLUSIVITE/EXCLUSIVITE)**

#### **Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement**

- 28 souches de *Staphylococcus* à coagulase positive ont été détectées sur 30 testées. Les 2 souches ayant montré de petites colonies difficilement dénombrables sont des souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus intermedius*. Seule cette dernière n'a pas montré de test de confirmation positif par les méthodes de confirmation. Ces deux souches ne montrent également qu'une légère auréole lors de la réalisation de la méthode de référence.
- L'étude de 20 souches à coagulase négative n'a pas mis en évidence la présence de réactions croisées.

### **PRATICABILITE**

#### **Mise en oeuvre de la méthode alternative seulement**

- L'obtention des résultats **positifs** avec la méthode alternative se fait en 1 jour avec confirmation par le test PASTOREX ou en 2 jours avec confirmation par le test de la coagulase sur milieu BP + RPF, contre 4 jours avec la méthode de référence.
- L'obtention des résultats **négatifs** se fait en 1 jour avec la méthode alternative contre 2 jours avec la méthode de référence, dans la mesure où aucune colonie caractéristique ou non caractéristique n'est dénombrée par la méthode de référence, sinon le délai est porté à 4 jours.
- La méthode alternative RAPID'*Staph* réduit considérablement le temps de manipulation, en particulier lors de la réalisation de la confirmation des colonies. Globalement, il faut deux à trois moins de temps pour réaliser la méthode RAPID'*Staph* par rapport à la méthode de référence.

## ETUDE INTERLABORATOIRE

L'étude interlaboratoire a été réalisée en 2004 avec 12 laboratoires collaborateurs. Les analyses ont été effectuées sur des échantillons de lait pasteurisé demi-écrémé, contaminés artificiellement avec une souche de *Staphylococcus aureus* aux 4 niveaux suivants :

- niveau 0
- niveau 1 : 10 à 100 UFC/ml
- niveau 2 : 100 à 1 000 UFC/ml
- niveau 3 : 1 000 à 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 d'échantillons exploités*	Méthode de référence		Méthode alternative		
		Répétabilité r	Reproductibilité R	Répétabilité r	Reproductibilité R	Biais
10 à 100	22*	0,352	0,365	0,881	0,881	0,13
100 à 1 000	24	0,264	0,268	0,338	0,377	-0,01
1 000 à 10 000	24	0,117	0,280	0,323	0,461	-0,03

\* Les échantillons de deux laboratoires n'ont pas été exploités pour les raisons suivantes :

- un laboratoire a effectué un dénombrement inférieur à 10 pour l'une des répétitions au niveau 1 ;
- un autre laboratoire a dénombré des colonies caractéristiques confirmées coagulase positive pour le niveau zéro ; il s'agit probablement de contaminations accidentelles lors de la réalisation des analyses.

### 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)